



TITLE:

# 京都大学再生医科学研究所年報 2004

AUTHOR(S):

---

CITATION:

京都大学再生医科学研究所年報 2004. 京都大学再生医科学研究所年報  
2005, 7

ISSUE DATE:

2005-03-25

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/50577>

RIGHT:

京都大学

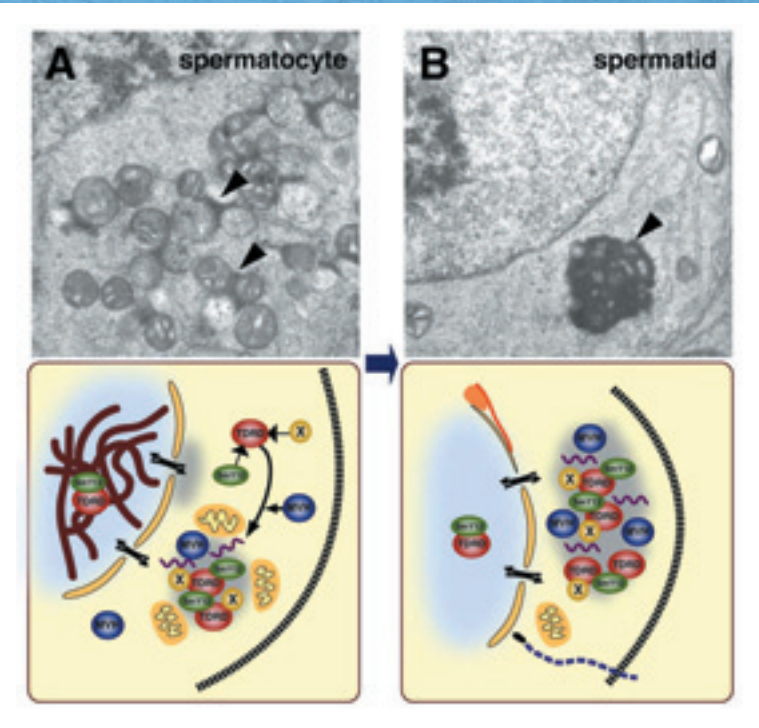
再生医科学研究所年報（第七卷）

二〇〇四

京都大学

# 再生医科学研究所年報

Annual Report of the Institute for Frontier Medical Sciences  
Kyoto University



〈第 7 卷〉

2004  
平成16年

#### 表紙写真

哺乳類(マウス)生殖顆粒構造の電子顕微鏡観察像(上段)と構成分子の模式図(下段)。生殖顆粒は生殖細胞細胞質内に特徴的に観察される非膜系構造であり、タンパク質と **RNA** に富む。減数分裂期の第一精母細胞ではミトコンドリアクラスターの間 to 散在し(A)、半数体円形精子細胞ではより大きな凝集体となる(B)。



## 目 次

1. 巻頭言	1
2. 京都大学再生医科学研究所概要	
2-1 沿革	2
2-2 教員数等	2
(1) 教員	2
(2) 大学院生・研修員・研究生等	2
2-3 組織図	3
3. 研究概要と研究業績	
生体機能学研究部門	
細胞機能調節学分野	4
生体微細構造学分野	11
生体機能調節学分野	14
生体システム制御学分野	22
生体組織工学研究部門	
生体分子設計学分野	26
生体材料学分野	34
組織修復材料学分野	56
再生統御学研究部門	
発生分化研究分野	63
再生誘導研究分野	66
再生増殖制御学分野	71
再生免疫学分野	75
再生医学応用研究部門	
組織再生応用分野	78
器官形成応用分野	83
臓器再建応用分野	88
附属再生実験動物施設	97
附属幹細胞医学研究センター	
霊長類胚性幹細胞研究領域	101
幹細胞分化制御研究領域	104
幹細胞加工研究領域	109
附属ナノ再生医工学研究センター	
ナノバイオメカニズム研究領域	114
シミュレーション医工学研究領域	119
寄附研究部門	
組織分化制御学研究部門	128
技術部	131
4. 学術集会	
4-1 再生医科学研究所学術講演会	132
4-2 セミナー	133
4-3 研究発表会	135
4-4 学術講演会・シンポジウム・研究会	137
5. 協議員・教職員名簿	138



# 1. 巻 頭 言

再生医科学研究所が「生体組織及び臓器の再生に関する学理及びその応用の研究」を目的として平成10年4月に設置されてから早くも7年が経過しようとしています。この間、再生医学の研究が国内外で注目を浴びると同時に、できるだけ早期に画期的な再生治療を実現することが期待されています。再生医学の発展には生命科学、医学と工学を統合した学際的融合的研究が不可欠であり、多様な学問分野を基盤とする研究者が共に研究を進め交流する再生医科学研究所はその中核的役割を果たすことを目指してきました。

平成16年には、医学研究科・医学部附属病院と共同で進める21世紀COEプログラム「融合的移植再生治療を目指す国際拠点形成」による拠点形成事業が本格的に動き始めました。研究部門を一部再編することにより、ナノ再生医工学研究センターが設置され、新設のナノバイオプロセス研究領域に楠見明弘教授が着任しました。研究所としては最初の寄附研究部門として、組織分化制御学研究部門が設置されて平井洋平特任助教授が着任しました。研究所の人事異動としては、臓器再建応用分野の清水慶彦教授の定年退官、再生誘導研究分野に山中伸弥教授の着任、附属再生実験動物施設に近藤玄助教授が着任、附属幹細胞医学研究センター・幹細胞加工研究領域に多田高助教授が着任、川端昭男事務長の辞職ならびに伊東成治新事務長の着任がありました。

平成16年4月に法人化した国立大学は、社会の中でどのような役割を果たすべきか、未来の方向を探りつつあります。おそらく、時代を経ても変化しない真の価値を尊重する考えと、伝統の上に安住することなく時代が求める新しい価値を追求する考え、その一方に偏るのではなく両者共に大事だと考える困難な舵取りが求められています。私どもの再生医科学研究所は再生医学の基礎と応用研究という明確な目的をもつ研究所ではありますが、今後益々努力することによって、真に社会に貢献したと評価される研究所になりたいと考えています。引き続き皆様のご支援とご助言を宜しくお願い申し上げます。

平成17年1月

所 長 中 辻 憲 夫

## 2. 京都大学再生医科学研究所概要

### 2-1 沿革

本研究所は、平成10年4月9日に設置された。その前身である胸部疾患研究所は、昭和16年3月に「結核の予防及び治療」を主軸とする結核研究所として設置され、昭和42年6月には結核胸部疾患研究所に名称変更、さらに昭和63年4月には「胸部疾患に関する学理及びその応用の研究」を目的とした胸部疾患研究所への全面改組が行われたが、胸部疾患に関する研究・治療を取り巻く社会的要請の変化から、胸部疾患研究所は57年間にわたる使命を終え、平成10年度より、同研究所基礎系分野及び臨床系分野の一部を人工臓器の研究・開発に関して顕著な業績を挙げて来た生体医療工学研究センターと統合し、さらに実地臨床医学を行う医学研究科との協力により、「生体組織及び臓器の再生に関する学理及びその応用の研究」を目的とする再生医科学研究所に改組・転換された。

改組・転換に伴い、胸部疾患研究所の臨床系分野の一部と研究所附属病院は、大学院医学研究科・医学部並びに医学部附属病院へそれぞれ引き継がれた。

本研究所は、平成10年4月の発足時は5大研究部門と附属再生実験動物施設で組織された。その後平成14年4月に附属幹細胞医学研究センターが設置され、平成16年4月に研究部門の再編(1大研究部門減)の実施によりナノ再生医工学研究センターが設置された。平成16年10月には、住友電気工業(株)の寄附による寄附研究部門が設置され、よって、現在4大研究部門(生体機能学、生体組織工学、再生統御学、再生医学応用)、3附属施設、1寄附研究部門となっている。

本研究所は生命科学、医学、工学などの研究者が結集して再生医学の学際的基礎研究を押し進め、その成果の医学応用をめざすとともに、ヒトES細胞株の国内唯一の樹立機関として、樹立・特性解析を行ったES細胞を、文部科学大臣が確認したヒトES細胞使用研究機関へ分配するナショナルバイオリソース事業を実施している。

主な建物は、再生医科学研究所西館(旧胸部疾患研究所附属病院の後身である医学部附属病院南西病棟と合同使用)、再生医科学研究所東館(旧生体医療工学研究センター)、ES細胞研究棟(平成14年竣工)、南部総合研究実験棟(ウイルス研、医学研究科との3部局合同使用)(平成14年竣工)の4棟となっている。

### 2-2 教員数等

#### (1) 教員 (平成17年1月1日現在)

区 分	教 授	助 教 授	助 手	計
定 員	18 (2) <1>	19 (1)	4	41 (3) <1>

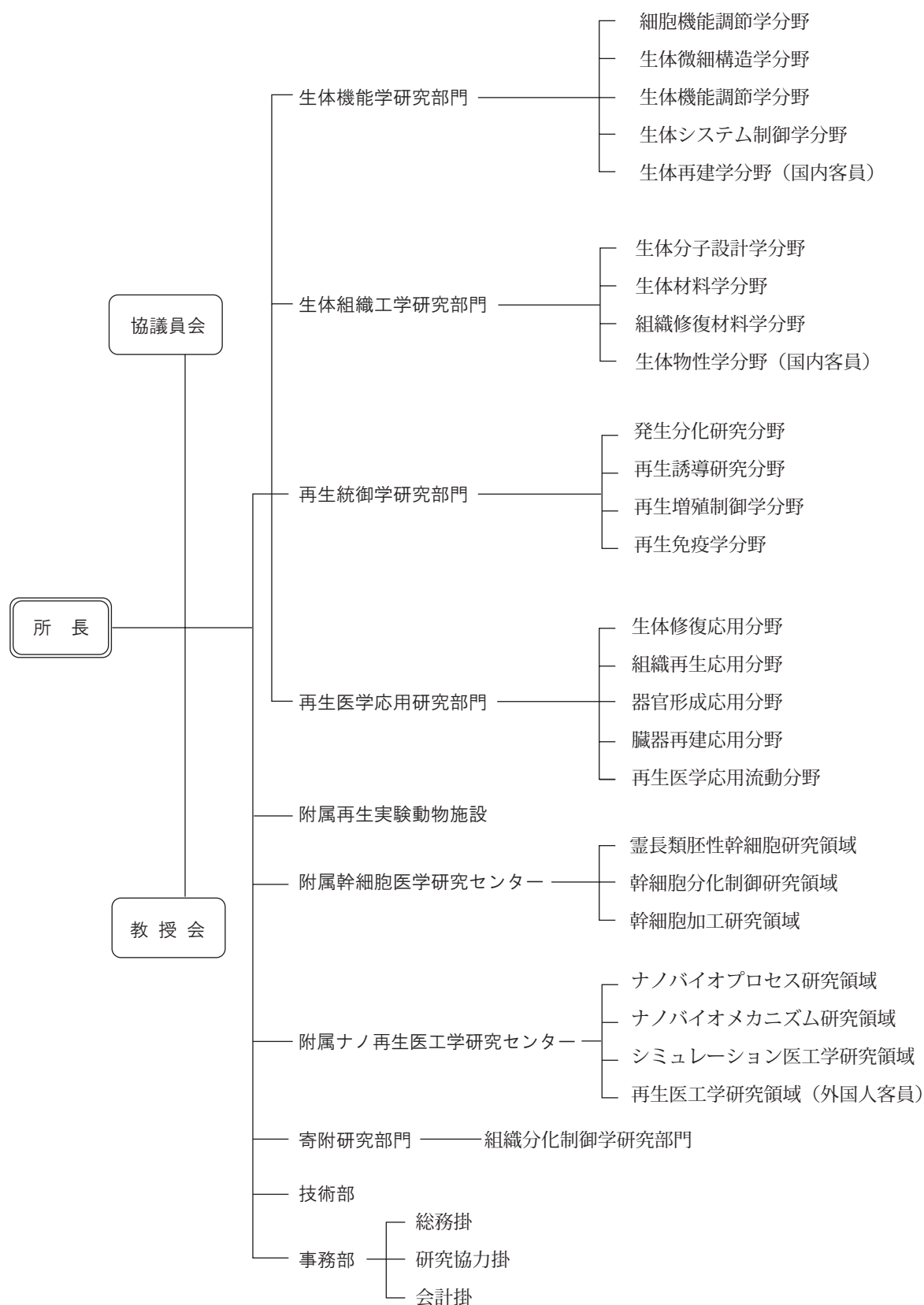
( ) は国内客員で外数

< > は外国人客員で外数

#### (2) 大学院生・研修員・研究生 (平成17年1月1日現在)

大 学 院 生	研 修 員	研 究 生	外国人共同研究者等
85	6	17	1

## 2-3 組織図





### 3. 研究概要と研究業績

#### 生体機能学研究部門

##### 細胞機能調節学分野

##### Department of Molecular and Cellular Biology

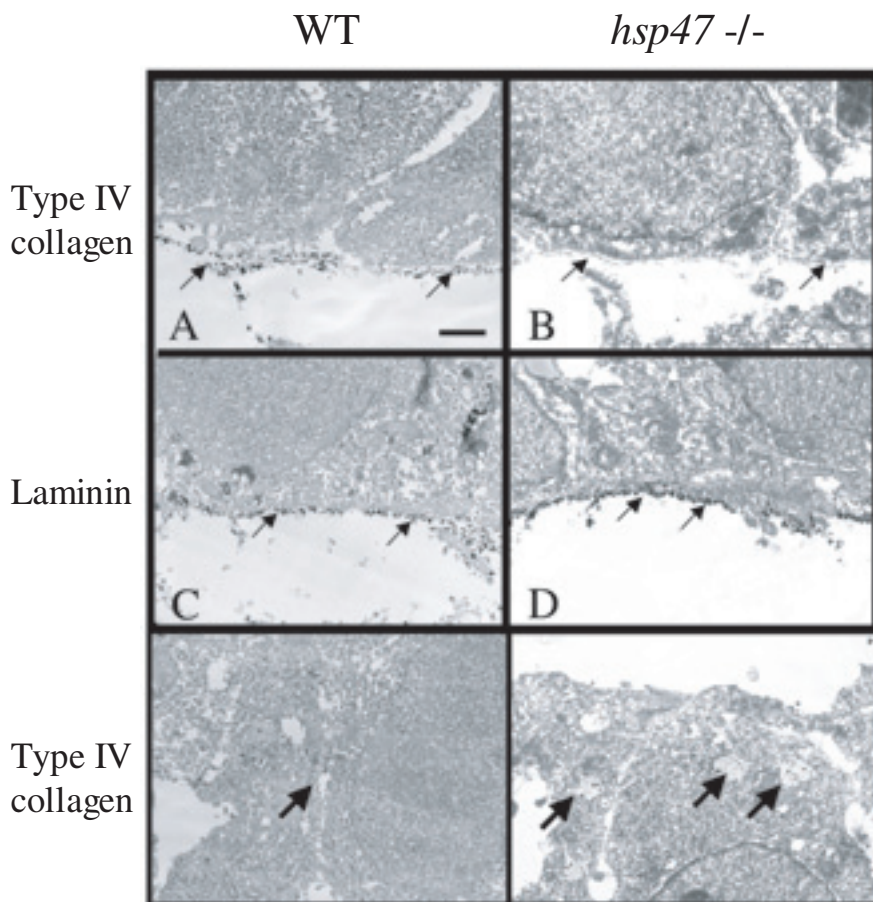
分野主任 教授 永田 和宏

*Prof. Kazuhiro Nagata*

#### 【研究概要】

細胞機能調節学分野では、分子シャペロンの機能解析を中心に、再生現象の分子基盤とも言うべきタンパク質の合成・再生・品質管理の機構について、具体的には以下の3つの大きなテーマに添って、研究を進めている。

第1のテーマは、小胞体における **productive folding** に関する研究であり、コラーゲン特異的分子シャペロン **HSP47** の機能解析を中心に研究を進めている。**HSP47** はコラーゲンの正常な合成・分泌にとって必須の分子シャペロ



マウス embryo の免疫電子顕微鏡観察：HSP47<sup>-/-</sup> embryo (10.5dpc) においては、基底膜へのIV型コラーゲンの蓄積が見られない。それとともに、小胞体へのIV型コラーゲンの蓄積が顕著に観察され、これによってアポトーシスが引き起こされる。

ンであることを明らかにしてきたが、**HSP47** は組織の繊維化にとっても重要な寄与をしている。**HSP47** の発現を抑制することによって繊維化の進行を遅らせることができるというデータから、**HSP47** の抑制を介した繊維化疾患の治療戦略が考えられている。本年度は **HSP47** ノックアウトマウス、および **HSP47** ノックアウト **ES** 細胞を用いた研究より、**HSP47** が **IV** 型コラーゲンの分子成熟(3 本鎖形成)に必須の分子シャペロンであることを明らかにし、2 編の論文として **publish** した。**HSP47 null mouse** では、**type IV collagen** の 3 本鎖形成に異常が起こり、分泌速度が遅くなって、コラーゲンは小胞体に蓄積していた。このことによって基底膜への **type IV collagen** の蓄積が見られず、10.5 日齢の **embryo** では基底膜が断裂してしまう。これは **type IV collagen meshwork** による基底膜の補強がなければ、基底膜が強度を獲得できず、9.5 日目から 10.5 日目にかけての劇的な形態形成の時期に、その大きな組織の変化に耐えられずに断裂してしまう結果であることが明らかになった。また、**type IV collagen** が細胞内の小胞体に蓄積し、これが小胞体ストレスとなって、アポトーシスが引き起こされることが明らかになった。現在、基質であるコラーゲンとどのような部位を介して相互作用しているのかを明らかにするため、**HSP47** の種々のアミノ酸に変異を入れ、コラーゲンとの結合性を調べることにより、**HSP47** の基質結合ドメインの特定を進めつつある。(文責・永田)

第 2 のテーマとして、小胞体品質管理(**ERQC**)、小胞体関連分解(**ERAD**)に関する研究を進めている。細胞は、多種多様なタンパク質をかなりのスピードで生合成しているが、この時、様々な理由でタンパク質のミスフォールディングが生じてくる。ミスフォールドしてしまったタンパク質は細胞内分解を受けることになるが、小胞体内に蓄積した異常タンパク質の場合には、**ERAD** という機構によって、小胞体から一旦サイトゾルに引き出された後に、プロテアソームによって分解されることが知られている。私たちがクローニングしたマウス **EDEM** タンパク質は、糖タンパク質の **ERAD** に関わる重要な **molecule** であると考えられる。データベースを検索することによって、私たちは、さらに二つの **EDEM** ホモログを見いだしたので、クローニングして、機能解析を行った。その結果、**EDEM 2** には糖タンパク質の **ERAD** を促進する効果が見られないが、**EDEM3** は促進効果をもつことが明らかになった。また、**ERAD** で分解される基質タンパク質の糖鎖構造を解析することによって、私たちは、**EDEM3** の作用機序は、**EDEM** とは異なると考えている。さらに、*in situ hybridization* およびノーザン解析によって、**EDEM** および **EDEM 3** のマウス個体における発現部位の違いを明らかにできたので、今後、内在性タンパク質の検出、ノックアウトマウスの作出などを行って、解析を進めていく予定である。(文責・細川)

第 3 のテーマとして、ほ乳類細胞の細胞質シャペロニン **CCT** および関連蛋白質の研究を行っている。**CCT** の持つフォールディング促進活性を、無細胞蛋白質合成系により解析できるシステムを確立した。この系では、遺伝子から蛋白質を転写翻訳するための因子が全てインビトロで精製されたものであるので、非常に純粋な系で分子シャペロンの活性を解析できる。アクチンや **WD40** 蛋白質のフォールディング解析を行い、**CCT** によるその促進活性の詳細を検討している。また、細胞内の **CCT** サブユニットを **RNAi** 法によりノックダウンできる系を確立した。アクチンやチューブリンといった基質に対する作用を細胞内で蛍光イメージングにより解析している。さらに、**CCT** 類似蛋白質であり変異により発生異常をおこす **Mckusick-Kaufman syndrome** タンパク質についても解析を進めた。我々のデータから、この蛋白質はシャペロニン様の構造を持ちシャペロンとして機能すると考えられるが、病気をおこす変異体は分解が早くなっていることを見出した。また、蛍光イメージングにより、この蛋白質が細胞質と中心体との間を行き来するのが観察され、中心体での機能があるものと考えられた。現在、このタンパク質と相互作用する蛋白質群に関して解析を進めている。(文責・久保田)

The major focus in the Department of Molecular and Cellular Biology is to study the stress response and the

regulation and function of molecular chaperone/stress proteins. We are working mainly on the three topics in this field.

We found and cloned the gene of a novel stress protein HSP47 which resides in the endoplasmic reticulum (ER) acting as a collagen-specific molecular chaperone in the pathway of collagen biosynthesis, processing and secretion. HSP47 specifically and transiently binds to various types of collagen in the ER. In addition to the binding specificity to collagen, the expression of HSP47 is always closely correlated with those of collagens during the normal development of mouse embryo as well as in the pathophysiological conditions including liver and renal fibrosis.

We already succeeded in making knockout mice lacking *hsp47* gene, which resulted in causing the embryonic lethality at 10.5 dpc in *hsp47*<sup>-/-</sup> homozygotic mice. In these homozygotic mice, the maturation of type I collagen was abnormal and the immature form of procollagen accumulated in the tissues. Using *hsp47*<sup>-/-</sup> ES cells, we found this year that type IV collagen secreted from *hsp47*-null cells could not form correct triple helices and the basement membrane was not formed in the embryoid bodies from those cells. We also observed the impairment of basement membrane formation in mouse embryos, thus these findings reveal that the knockout of the chaperone protein HSP47 causes the abnormality in molecular maturation of its substrate, and HSP47 is essential for mouse normal development. In those knockout mice, type IV collagen was observed to accumulate in the ER causing an ER stress, and apoptosis was also observed in those embryos after 10.5 dpc. (By K. Nagata)

Another project we are working on is the analysis of the intracellular mechanism of ERQC (ER quality control) including ERAD (ER associated degradation). Newly synthesized proteins in the ER acquire correct conformations before leaving to the secretory pathway, but when they fail to fold correctly, they are degraded by the cytoplasmic proteasomes after retrotranslocation out of the ER. We have cloned a mouse gene EDEM, which is involved in the ERAD of glycoproteins. By searching the protein data bases, we have identified two homologue proteins of EDEM in mouse. After cloning of these two genes, we examined whether these homologues were also involved in glycoprotein ERAD, and found that EDEM3, but not EDEM2 accelerated the degradation of misfolded glycoproteins. Analysis of the oligosaccharide structures on the ERAD substrate suggests that the mechanisms whereby EDEM or EDEM3 accelerates glycoprotein ERAD are discrete. By *in situ* hybridization and by northern blotting, we revealed that the tissue distributions of EDEM and EDEM3 in mouse are different. We are now trying to detect endogenous EDEM family proteins, and are planning to create knock out mice. (By N. Hosokawa)

We are also studying cytosolic chaperonin CCT and related proteins in mammalian cells. CCT is a molecular chaperone in the cytosol and assists in the folding of proteins. We established an *in vitro* system to evaluate CCT-assisted folding of newly-translated proteins. As this system is composed of purified recombinant proteins except that CCT was purified from the bovine testis, genuine contribution of CCT in the folding of post-translational proteins can be examined. Taking advantage of this system, we are analyzing CCT-assisted folding of actin and WD40 proteins in detail. We also succeeded in knock-down of CCT subunits *in vivo* using RNAi vectors, and we are now analyzing the CCT-assisted folding of actin and tubulin *in vivo*. In addition, we are studying the function of Mckuisick-Kaufman syndrome protein, which shows weak amino acid sequence similarity to CCT and other chaperonins. We found that this protein is structurally similar to group II chaperonins including CCT and is transiently associated with newly-translated proteins. Our recent data indicate that this protein is rapidly shuttling between the cytosol and centrosome, and that disease-causing mutants are rapidly degraded by proteasome-dependent system *in vivo*. (By H. Kubota)

## 【業績目録】

## ◆ 誌上発表 ◆

## 1) 原著論文

- Marcinik, S. J., Yun, C. Y., Oyadomari, S., Novoa, I., Zhang, Y., Jungreis, R., Nagata, K., Hardng, H. P., Ron, D. : CHOP induces death by promoting protein synthesis and oxidation in the stressed endoplasmic reticulum. *Genes Develop* **18** : 3066-3077(2004)
- Kuroda, T., Tada, M., Kubota, H., Kimura, H., Hatano, S., Suemori, H., Nakatsuji, N., Tada, T. : Octamer and Sox elements are required for transcriptional *cis*-regulation of *Nanog* gene expression. *Mol. Cell. Biol.* (In press)
- Nozaki, J., Kubota, H., Yoshida, H., Naitoh, M., Goji, J., Yoshinaga, T., Mori, K., Koizumi, A., Nagata, K. : The endoplasmic reticulum stress response is stimulated through the continuous activation of transcription factors ATF6 and XBP1 in *Ins2<sup>+</sup>/Akita* pancreatic beta cells. *Genes Cells* **9** : 261-270(2004)
- Marutani, T., Yamamoto, A., Nagai, N., Kubota, H., Nagata, K. : Accumulation of type IV collagen in dilated ER leads to apoptosis in Hsp47-knockout mouse embryos via induction of CHOP. *J Cell Sci* **117** 5913-5922(2004)
- Matsuoka, Y., Kubota, H., Adachi, E., Nagai, N., Marutani, T., Hosokawa, N., Nagata, K. : Insufficient folding of type IV collagen and formation of abnormal basement membrane-like structure in embryoid bodies derived from Hsp 47-null embryonic stem cells. *Mol Biol Cell* **15** 4467-4475(2004)
- Ohashi, S., Abe, H., Takahashi, T., Yamamoto, Y., Takeuchi, M., Arai, H., Nagata, K., Kita, T., Okamoto, H., Yamamoto, H., Doi, T. : Advanced glycation end products increase collagen-specific chaperone protein in mouse diabetic nephropathy. *J Biol Chem* **279** : 19816-19823(2004)
- Yamashita, M., Hirayoshi, K., Nagata, K. : Characterization of multiple members of the HSP70 family in platyfish culture cells : molecular evolution of stress protein HSP70 in vertebrates. *Gene* **336** : 207-218(2004)
- Yonekura, K., Yokota, S., Tanaka, S., Kubota, H., Fujii, N., Matsumoto, H., Chiba, S. : Prevalence of anti-heat shock protein antibodies in cerebrospinal fluids of patients with Guillain-Barre syndrome. *J. Neuroimmunol.* **156**, 204-209. (2004)
- Ishiguchi, H., Izumi, H., Torigoe, T., Yoshida, Y., Kubota, H., Tsuji, S. and Kohno, K. : ZNF143 activates gene expression in response to DNA damage and binds to cisplatin-modified DNA. *Int. J. Cancer* **11**, 900-909.(2004)

## 2) 著書および総説

- Koide, T., Nagata, K. : Collagen Biosynthesis. "Topics in Current Chemistry : Collagen" (Eds Brinckmann et al.) Springer-Verlag (In press)
- 石川統, 黒岩常祥, 永田和宏編集 : 細胞生物学事典. 朝倉書店(in press)
- 長野敬, 永田和宏, 宮坂昌之, 宮坂信之編集 : 先端医学キーワード小辞典. 医学書院(2004)
- 永田和宏 : タンパク質の品質管理と細胞の危機管理. 蛋白質核酸酵素「細胞における蛋白質の一生」Vol. **49**, No. **7** : 973-983(2004)
- 永田和宏 : タンパク質の多様性獲得戦略. **GYROS** 「ゲノム革命」 Vol.1, No.7 : 134-145(2004)
- 永田和宏 : 序文 : 悪貨が良貨を駆逐しないために : タンパク質の無法地帯における警察機能. 細胞工学「階層別にみるタンパク質のフォールディングと品質管理 : *in vivo* から細胞・個体レベルまで」(永田和宏編)Vol.23,

**No.12 : 1362-1363(2004)**

細川暢子：小胞体タンパク質品質管理と ERAD-EDEM 分子は糖タンパク質の ERAD を促進する-。蛋白質核酸酵素「細胞における蛋白質の一生」Vol.49, No.7 : 984-987(2004)

細川暢子：小胞体関連分解(ERAD)．生体の科学「生命科学の New Key Word」Vol.55, No.5 : 416-417(2004)

久保田広志, 永田和宏：蛋白質のフォールディング監視機構．神経研究の進歩「蛋白質の品質管理と神経疾患」Vol.48, No.1 : 5-15(2004)

久保田広志：細胞質シャペロニン CCT-最も複雑なシャペロン?-。蛋白質核酸酵素「細胞における蛋白質の一生」Vol.49, No.7 : 875-876(2004)

小谷峰, 本間貴之, 岩橋均：高圧殺菌のジェノミクス．FFI ジャーナル(in press)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

Nobuko Hosokawa, Ikuo Wada, Yuko Natsuka, Kazuhiro Nagata : EDEM accelerates ERAD by preventing aberrant dimer formation of misfolded  $\alpha$ 1-antitrypsin. 第 57 回日本細胞生物学会大会(2004.5.26~28. 豊中市)

細川暢子, 平尾和義, 中村純治, 長束優子, 和田郁夫, 永田和宏：糖タンパク質の小胞体関連分解に関わる  $\alpha$  マンノシダーゼ様タンパク質．文部科学省特定領域研究「糖鎖によるタンパク質と分子複合体の機能調節」夏期シンポジウム(2004.8.26~27. 木更津市)

久保田広志, 山崎裕自, 吉田尊雄, 安永卓生, 北村 朗, 小田裕香子, 永田和宏：シャペロニン様 Mckusick-Kaufman syndrome タンパク質の病因変異体はプロテアソーム依存的に急速に分解される．第 27 回日本分子生物学会大会(2004.12.9. 神戸市)

久保田広志, 山崎裕自, 吉田尊雄, 安永卓生, 北村 朗, 小田裕香子, 永田和宏：中心体に豊富なシャペロニン様タンパク質 MKKSP の病因変異体は急速な細胞内分解を受ける．第 9 回臨床ストレス蛋白質研究会(2004.11.3. 秋田市)

久保田広志：発生異常を伴う遺伝病 Mckusick-Kaufman シンドローム原因蛋白質：新規シャペロニン様特性と疾患変異体の急速分解．2004 年度科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業“たんぱく質関連領域”合同シンポジウム(2004.12.23. 東京都)

長束優子, 平尾和義, 中村純治, 田村 拓, 和田郁夫, 長束俊治, 細川暢子, 永田和宏：EDEM ホモログ蛋白質の機能解析．第 77 回日本生化学会大会(2004.10.15. 横浜市)

Yuko Natsuka, Kazuyoshi Hirao, Junji Nakamura, Shunji Natsuka, Nobuko Hosokawa, Kazuhiro

Nagata : Cloning Expression, and Characterization of EDEM Homolog Proteins. US/Japan Glyco 2004 Joint Meeting of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research(2004.11.18. Hawaii(USA))

Toshihiro Marutani, Akitsugu Yamamoto, Naoko Nagai, Hiroshi Kubota, Kazuhiro Nagata : Accumulation of incorrectly folded type IV collagen in dilated ER in hsp47 null mice, which causes an ER stress resulting in apoptosis. 第 57 回日本細胞生物学会大会(2004.5.26~28. 豊中市)

森戸大介, 平尾和義, 細川暢子, 永田和宏：哺乳類 HRD1 ホモログの基質選択の解析．第 27 回日本分子生物学会大会(2004.12.9. 神戸市)

- Junji Nakamura, Kazuhiro Nagata Nobuko Hosokawa : Differential expression of EDEM and solEDEM (EDEM soluble homologue) mRNAs during embryonic development of the mice. 第 57 回日本細胞生物学会大会 (2004.5.26~28. 豊中市)
- Yasuhiro Matsuoka, Hiroshi Kubota, Akira Kitamura, Kazuhiro Nagata : Mutational analysis of the ER molecular chaperone HSP47 for identifying the collagen-binding sites. 第 57 回日本細胞生物学会大会 (2004.5.26~28. 豊中市)
- 松岡泰弘, 久保田広志, 北村 朗, 永田和宏 : ER 分子シャペロン HSP47 のコラーゲン結合部位の解析. 第 77 回日本生化学会大会 (2004.10.15. 横浜市)
- 松岡泰弘 : 小胞体分子シャペロン HSP47 のコラーゲン生合成課程に果たす役割—ノックアウトマウスから分子レベルの解析まで—. 2004 年度科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業“たんぱく質関連領域”合同シンポジウム (2004.12.23. 東京都)
- Koji Nagasawa, Toshio Higashi, Nobuko Hosokawa, Kazuhiro Nagata : Simultaneous induction of all subunits of TRAPgene by ER stress. 第 57 回日本細胞生物学会大会 (2004.5.26~28. 豊中市)
- Kazuyoshi Hirao, Daisuke Morito, Yuko Natsuka, Nobuko Hosokawa, Yoshihide Hayashizaki, Kazuhiro Nagata : A soluble homologue of EDEM accelerate ER-associated degradation. 第 57 回日本細胞生物学会大会 (2004.5.26~28. 豊中市)
- 小田裕香子, 岡田徹也, 吉田秀郎, Randal J. Kaufman, 永田和宏, 森 和俊 : IRE1-XBP1 経路で制御される新規遺伝子 CERD1/Derlin-2 の機能解析. 第 27 回日本分子生物学会大会 (2004.12.9. 神戸市)
- Tetsuya Okada, Yukako Oda, Hiderou Yoshida, Randal J. Kaufman, Kazuhiro Nagata, Kazutoshi Mori : CERD, a novel component of ER-associated degradation machinery, regulated by the IRE1-XBP1 pathway. FASEB 2004 Summer Research Conferences (2004.9.31~8.5. Vermont(USA))
- Takao Kuroda, Masako Tada, Hiroshi Kubota, Hironobu Kimura, Shin-ya Hatano, Hirofumi Suemori, Norio Nakatsuji and Takashi Tada : Regulatory elements required for on-off switching of pluripotential cell specific Nanog expression. 13th Conference of the International Society of Differentiation (2004.9.5~9. Honolulu(USA))
- 黒田貴雄, 多田政子, 久保田広志, 木村博信, 秦野慎矢, 末盛博文, 中辻憲夫, 多田高 : 未分化性維持因子 Nanog の転写制御機構. 日本遺伝学会第 76 回大会 (2004.9.27~29. 吹田市)
- 黒田貴雄, 多田政子, 久保田広志, 木村博信, 秦野慎矢, 末盛博文, 中辻憲夫, 多田高 : Octamer/Sox 配列が Nanog の転写を制御する. 第 27 回日本分子生物学会大会 (2004.12.9. 神戸市)
- 平井和弥, 菊池史郎, 栗田 淳, 安達栄治郎, 松岡泰弘, 永田和宏, 渡邊昌彦 : スキルス胃癌モデルおよび患者組織に於けるコラーゲン特異的分子シャペロン HSP47 の発現. 第 24 回日本分子腫瘍マーカー研究会 (2004.9.28. 福岡市)
- A. Oguro, T. Sakurai, M. Otawa, K. Nagata, Y. Atomi : The change of HSP47, collagen specific molecular chaperone, expression in rat skeletal muscle may regulate collagen production with gravitational conditions. 44rd American Socty for Cell Biology Annual Meeting (2004.12.4~8. Wahington, DC(USA))
- 山内 忍, 加納ふみ, 近藤久雄, 田中亜路, 土田マーク彰, 細川暢子, 永田和宏, 村田昌之 : 細胞周期依存的な ER exit site のダイナミクス (II) : ER-ゴルジ体小胞輸送への影響. 第 27 回日本分子生物学会大会 (2004.12.9. 神戸市)
- 菊池唯史, 細川暢子, 永田和宏, 宮田敏行, 小亀浩市 : 小胞体膜蛋白質 Herp は小胞体関連分解基質の脱糖鎖と分



解に関与する．第 27 回日本分子生物学会大会(2004.12.10. 神戸市)

Iwahashi, H., Odani, M., Shimizu, H., Kitagawa, E. and Homma, T : Physiology of Yeast Cells Under High Pressure Conditions That Cause Growth Inhibition, Growth Arrest, and Cellular Death. 3rd International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology(2004.10. Rio de Janeiro(Brazil))

岩橋均, 小谷峰, 清水久代, 北河恵美子, 本間貴之: 酵母高压ストレス応答のジェノミクス解析. 第 45 回高压討論会(2004.10. 草津市)

Hiroko Ikushiro, Mohammad. M. Islam, Akihiro Okamoto, Jun Hoseki, Hideyuki Hayashi : Structural and Spectroscopic Studies of Bacterial Serine Palmitoyltransferase : Insights into the Unique Catalytic Mechanism. 第 76 回日本生化学会大会(2004.10.15. 横浜市)

## 2) 講演・シンポジウム

永田和宏: 小胞体関連分解: タンパク質の品質管理戦略. 第 77 回日本薬理学会年会シンポジウム「創薬ターゲットとしてのタンパク質フォールディングと小胞体機能」(2004.3.10. 大阪市)

Kazuhiro Nagata, Nobuko Hosokawa : ER-associate degradation : EDEM, soluble EDEM and more... . The 1st Pacific-Rim International Conference on Protein Science(2004.4.16. Yokohama)

Kazuhiro Nagata, Nobuko Hosokawa : Is EDEM a lectin-like chaperone involved in ERAD ? --EDEM, soluble EDEM and more... . Cold Spring Harbor Meeting “Molecular Chaperones and the Heat Shock Response”(2004.5.5~9 Cold Spring Harbor(USA))

永田和宏: タンパク質の品質管理機構: 小胞体関連分解と EDEM. 東京工業大学生命工学セミナー(2004.6.24. 横浜市)

永田和宏: コラーゲン線維と分子シャペロン. みらいせんい展・生命系イベントシンポジウム「細胞はナノファイバーで動かされている!」(2004.7.14 東京都)

永田和宏: 小胞体品質管理の分子機構. 国立遺伝研第 995 回バイオリジカルシンポジウム(2004.9.21. 三島市)

Kazuhiro Nagata : Productive folding and quality control of nascent proteins in the endoplasmic reticulum. IFMS, IMEG, CDB Joint Forum(2004.11.22. 神戸市)

永田和宏: 科学と文学の間. 第 7 回岐阜大学フォーラム(2004.12.13. 岐阜市)

永田和宏: タンパク質はどのように作られ, どのように壊されるのか?. 京都大学再生医科学研究所平成 16 年度学術講演会(2004.12.17. 京都市)

永田和宏: 小胞体におけるタンパク質の品質管理機構. 2004 年度科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業”たんぱく質関連領域” 合同シンポジウム(2004.12.22. 東京都)

細川暢子: 小胞体の品質管理機構-細胞内メカニズム-. 千里ライフサイエンスセミナー「タンパク質のクオリティコントロールとその破綻」(2004.9.7. 豊中市)

細川暢子, 平尾和義, 中村純治, 長束優子, 和田郁夫, 永田和宏: 糖タンパク質の小胞体関連分解: 小胞体マンノシダーゼ I, EDEM, EDEM ホモログタンパク質は, いずれも糖タンパク質の ERAD を促進する. 第 77 回日本生化学会大会シンポジウム「糖タンパク質のフォールディングとプロセシングの品質管理」(2004.10.15. 横浜市)

Nobuko Hosokawa, Ikuo Wada, Kazuhiro Nagata :  $\alpha$ -Mannosidase-like proteins involved in glycoprotein ERAD. 第 27 回日本分子生物学会大会ワークショップ「タンパク質の品質管理とその破綻」(2004.12.9. 神戸市)

久保田広志：線維タンパク質をつくる分子シャペロン．みらいせんい展・生命系イベントシンポジウム「細胞はナノファイバーで動かされている！」(2004.7.13. 東京都)

久保田広志, 永田和宏：コラーゲンファイバーとその分子シャペロンの役割：HSP47-KO マウスの研究から．日本宇宙生物科学会第 18 回大会シンポジウム「動物細胞の重力適応：タンパク質ダイナミクスとファイバーシステム」(2004.10.1. 豊明市)

久保田広志, 山崎裕自, 吉田尊雄, 安永卓生, 北村朗, 小田裕香子, 永田和宏：MCKUSICK-KAUFMAN SYNDROME タンパク質：中心体に豊富な新規シャペロン．第 77 回日本生化学会大会ワークショップ「分子シャペロン」(2004.10.15. 横浜市)



## 生体微細構造学分野 Department of Ultrastructural Research

分野主任 講師 平芳 一法

*Lect. Kazunori Hirayosi*

### 【研究概要】

我々は生命現象の基本である転写の解析と、機能性核酸 RNA アプタマーの基礎と応用を中心に研究を展開している。

発生、分化を含む全ての生命現象は、転写によって制御されている。転写は、数々のシグナルが最終的に全ての遺伝子制御に共通な制御機構、基本転写機構に作用することで制御されている。裸の DNA を鋳型とする試験管内の解析が中心であった転写機構の解析も、クロマチン構造をとった DNA を鋳型とする解析へ、さらには核の構造と結びつけて考える段階に移行しつつある。生体内での反応をよりよく解析する方法として、機能性核酸 RNA アプタマーに注目し、研究に応用してきた。生きた細胞内での転写機構を解析する有効な方法がない現状で、我々の研究は、細胞内の転写因子間の相互作用を *in vivo* で解析する新しい方法として期待されている。RNA アプタマーはあたかも抗体のごとく働き、生体内で標的とするタンパク質の機能を阻害することが可能である。多くの遺伝子の転写制御領域に存在する TATA 配列に結合する TBP (TATA Binding Protein) は、基本転写機構の核となる因子として知られており、我々の RNA アプタマーを用いた解析が、転写複合体中におけるこの因子の機能を明らかにしつつある。昨年来数種の TBP に特異的なアプタマーを取得し、試験管内の転写反応を阻害することを明らかにしたが、さらに特異性の高い新たなアプタマーの取得に成功した。TBP 分子には、種間を越えてよく保存された C 末端側の領域と保存されていない N 端側領域に分けることができる。基本的な TBP の機能を発揮する C 末端側領域に比べ、N 端側領域の機能は不明であった。新たなアプタマーを用いた解析は、N 端側領域が TBP の転写制御領域への結合を制御する領域であり、その機能を明らかにする重要な手がかりを与えるものとなった。転写制御を考える上で、もう一つの重要な課題であるクロマチン構造による制御を解析するため、この構造を崩す因子として知られている GAGA factor に対するアプタマーを取得し、その機能を解析した。GAGA factor は機能的に主要な 3 つの部位を含む。そのうちの一つである POZ 領域に結合する 2 つのアプタマーは共に転写に影響を与えるが、遺

伝子によってその影響が異なる事を明らかにした。GAGA factor はクロマチンの構造を崩すだけでなく、転写反応そのものを促進するか否かで議論が分かれているが、このアプタマーによる解析は GAGA factor が転写そのものを伸長過程で促進する事を示唆した。現在複合体中に含まれる因子の同定と構造学的な解析を行うため、共同研究でアプタマー存在下での結晶構造解析を行い、その結合部位の同定を進めている。

研究用ツールとして使用したアプタマーの有用性から、治療薬、検査用試薬への注目を集めつつあり、その実用面での本格的な応用を考え、取得方法の改良及び適した機械の開発、測定方法の改良を行っている。

Our laboratory is focusing our research on the analyses of basal transcription and the development of applications of RNA aptamer.

For the total understanding of *in vivo* transcription, we introduced RNA aptamers as a new analysis tool for dissecting architecture of transcription complex. Control over interactions between proteins in the complex is critical to *in vivo* study, but the required specificity may not be easily incorporated into small molecules that constitute the majority

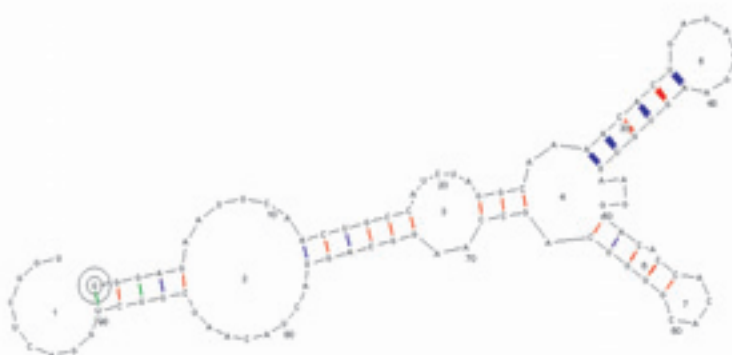


図1：想定される RNA アプタマーの二次元構造  
RNA アプタマーの構造をコンピューターでシミュレーションしたもの。

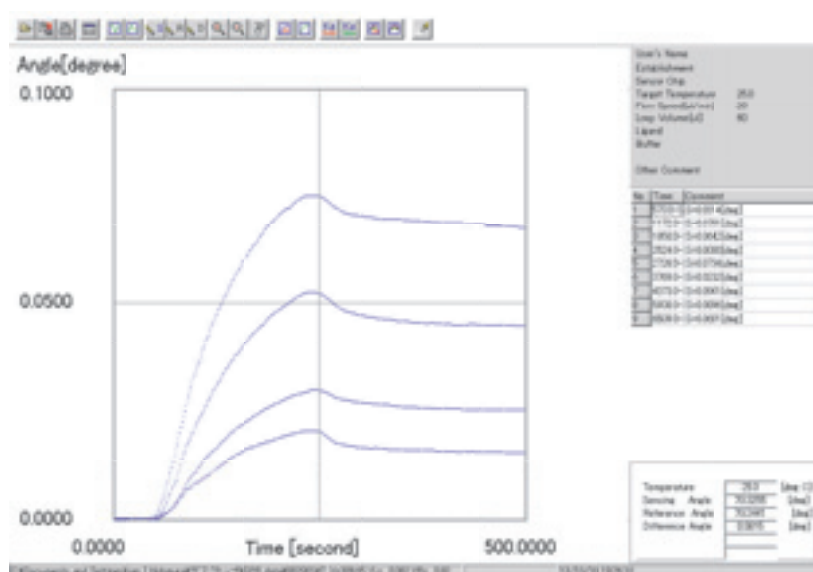


図2：SPRを用いた TBP への RNA アプタマーの結合の解析  
RNA アプタマーの濃度の増加に伴う結合量の増加が観察される。この結果から、RNA アプタマーの結合定数が  $10^{-7}$ M と、結合力に富むことが明らかになった。

of drugs currently in use. Bio-macromolecule-derived reagents may be more suitable as antagonists in this situation, and RNA aptamers have become an especially promising choice. We isolated the sub-molecular specific RNA aptamers against a protein that constitutes a single structural domain, the *Drosophila* TATA-binding protein (TBP) and GAGA factor, a protein with multi functional domain. TBP is a critical molecule on the transcription of eukaryotic cells consist with well studied conserved C-terminal half and unidentified functional non-conserved N-terminal half. Our aptamer against TBP indicate the function of non-conserved N-terminal half of TBP as a regulator of binding to TATA element.

GAGA is well known as a chromatin remodeling factor, but the activity for accelerates the transcription is open to argument. Aptamers against GAGA factor suggest that GAGA factor could accelerate the transcription in the step of elongation. To clarify the binding manner of aptamer with TBP and GAGA factor, crystallographic study is going as collaboration research.

For expanding the application of RNA aptamer as a cure drug or examination reagent, we tried to identify the RNA aptamer against other proteins incorporated into disease development and developing new tool for effective selection of RNA aptamer.

## 【業績目録】

### ◆ 誌上発表 ◆

#### 1) 原著論文

Yamashita M, Hirayoshi K, Nagata K. Characterization of multiple members of the HSP70 family in platyfish culture cells : molecular evolution of stress protein HSP70 in vertebrates. *Gene*. 336 : 207-218(2004)

### ◆ 学会等の発表 ◆

#### 1) 学会発表

法邑賢一・平芳一法 : The analysis of transcription complex by RNA aptamer(1)*Drosophila* TBP as a target 第 77 回日本生化学会大会(2004.10.13.~16. 横浜)

平芳一法・法邑賢一 : The analysis of transcription complex by RNA aptamer(2)*Drosophila* GAGA factor as a target 第 77 回日本生化学会大会(2004.10.13.~16. 横浜)

平芳一法・法邑賢一 : ショウジョウバエ GAGA 因子に結合する RNA アプタマーの解析. 第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12.8.~11. 神戸)

法邑賢一・平芳一法 : TBP 特異的 RNA アプタマーを用いた転写調節機構の解析. 第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12.8.~11. 神戸)



## 生体機能調節学分野 Department of Experimental Pathology

分野主任 教授 坂口 志文

*Prof. Shimon Sakaguchi*

### 【研究概要】

#### (1) 免疫寛容の基礎的研究

正常な免疫系は、非自己抗原に対して免疫応答を示すが、正常自己構成成分に対しては応答しない。このような免疫自己寛容の基礎的メカニズム、およびその破綻としての自己免疫病の原因・発症機構を研究している。これまでに、制御性 T 細胞が自己反応性 T 細胞の制御に重要であり、その機能異常により自己免疫病が発症しうることを示した。現在、制御性 T 細胞の発生・分化機構、またその制御機構の分子の基盤を解析している。本年度、制御性 T 細胞の発生・分化に、IL-2 が必須であることを見出した。正常マウスの生体内 IL-2 を中和すると、制御性 T 細胞は選択的に減少し、自己免疫病が発症する。サイトカインの中和により自己免疫病が自然発症する最初の例である。

#### (2) 腫瘍免疫、移植免疫の基礎的研究

内在性制御性 T 細胞の増殖あるいは機能強化を図り、移植臓器の拒絶反応の抑制、免疫寛容の導入が可能か検討した。本年は、試験管内で抗原特異的制御性 T 細胞を増殖させ、それを用いて、移植臓器に対して免疫寛容を誘導できることを示した。また、制御性 T 細胞に発現する GITR (Glucocorticoid-induced TNF receptor-related protein) に対する抗体の投与により腫瘍免疫を増強できることを示した。これらの結果は、制御性 T 細胞を強化し、移植臓器に対する安定・安全な免疫寛容を誘導できる可能性、逆に、弱化的ることにより腫瘍免疫を誘導できる可能性を意味する。

#### (3) 新しい動物モデルを用いた慢性関節リウマチ(リウマチ様関節炎)の原因・発症機構の研究

免疫病理学的にヒトのリウマチ様関節炎と酷似する慢性関節炎を自然発症するマウスモデルを確立し、その原因・発症機構を解析している。この関節炎は、正常関節抗原を認識・攻撃する T 細胞による自己免疫性関節炎である。本年度、関節炎発症に関与するサイトカインを解析した。関節炎局所では、TNF $\alpha$ 、IL-1、IL-6 などの炎症性サイトカインが活発に産生されており、これらのサイトカインの欠損マウスでは、関節炎の発症が有意に抑制された。この結果は、これらのサイトカインの操作によるリウマチ関節炎治療の妥当性を支持する。

This department studies : (i) the cellular and molecular basis of immunologic self-tolerance and the etio-pathology of autoimmune disease ; (ii) the strategy for eliciting effective immune responses to autologous tumor cells, or inducing immunologic tolerance to organ transplants, by manipulating the mechanism of immunologic self-tolerance ; and (iii) the cause and pathogenetic mechanism of rheumatoid arthritis.

One aspect of immunologic self-tolerance (i.e., immunological unresponsiveness of the normal immune system to normal self-constituents) is maintained by a T cell-mediated dominant control of self-reactive T cells. We showed that elimination of a T-cell subpopulation expressing CD25, which constitutes 5-10% of the peripheral CD4<sup>+</sup> T cells and less than 1% of CD8<sup>+</sup> T cells in normal individuals, elicits various autoimmune diseases immunopathologically similar to hu-

man counterparts (e.g., insulin-dependent diabetes mellitus, autoimmune thyroiditis, and autoimmune gastritis with pernicious anemia). Functional characterization of this immunoregulatory CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T-cell population revealed that it potently suppressed the activation/proliferation of other T cells in a cell to cell contact manner on antigen-presenting cells.

This year, we have found that interleukin-2 (IL-2) is indispensable for the generation, growth, and survival of CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells. Neutralization of circulating IL-2 indeed elicited autoimmune disease in otherwise normal animals. This is the first demonstration that neutralization of a particular cytokine can cause autoimmune disease. We have also investigated how endogenous regulatory T cells can be exploited for induction of transplantation tolerance. By preparing an *in vivo* condition suitable for antigen-specific expansion of regulatory T cells, or stimulating them *in vitro* with allo-antigens and transferring such antigen-expanded regulatory T cells to animals, we were able to induce graft tolerance.

We are also investigating the cause and pathogenetic mechanism of rheumatoid arthritis (RA) by analyzing a mouse model newly established in our department. This year, we investigated the contribution of various cytokines to the development and progress of arthritis. IL-1, IL-6, and TNF- $\alpha$  genes were actively transcribed at the site of arthritis. Deficiency of these cytokines significantly suppressed the development of arthritis. The results indicate crucial roles of these proinflammatory cytokines in the development of autoimmune arthritis as in human rheumatoid arthritis.

## 【業績目録】

### ◆ 誌上発表 ◆

#### 1) 原著論文

- Sakaguchi, S. : Regulatory T cells in immunologic tolerance to self and non-self. *Nature Immunol.* In press.
- Fehervari, Z. and Sakaguchi, S. : T lymphocytes : Regulatory. *Nature Encyclopedia of Life Sciences.* In press.
- Fehervari, Z., and Sakaguchi, S. : CD4<sup>+</sup> regulatory T cells and immune control. *J. Clin. Invest.* 114 : 1209-117, 2004.
- Yoshitomi, H., Sakaguchi, N., Brown, G., Tagami, T., Sakihama, T., Nomura, T., Akira, S., Gordon, S., Nakamura, T., and Sakaguchi, S. Environmental stimulation of innate immunity triggers chronic arthritis in mice genetically prone to produce arthritogenic autoimmune T cells : a key role of fungal  $\beta$ -glucans and their receptor Dectin-1. *J. Exp. Med.* In press.
- Turk MJ, Guevara-Patino JA, Rizzuto GA, Engelhorn ME, Sakaguchi, S., and Houghton AN. : Concomitant tumor immunity to a poorly immunogenic melanoma is prevented by regulatory T cells. *J. Exp. Med.* 200 : 771-82, 2004.
- Muriglian, S. J., Ramirez-Montagut, T., Alpdogan, O., Van Huystee, T. W., Eng, J. M., Hubbard, V. M., Kochman, A. A., Tjoe, K. H., Riccardi, C., Pandolfi, P. P., Sakaguchi, S., Houghton, A. N., and Van Den Brink, M. R. : GITR Activation induces an opposite effect on alloreactive CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in graft-versus-host disease. *J. Exp. Med.* 200 : 149-157, 2004.
- Ying Li, Y., Koshiba, T., Yoshizawa, A., Yonekawa, Y., Ito, A., Mori, T., Kawamoto, H., Tanaka, Y., Sakaguchi, S., Minato, N., Wood, K. J., and Tanaka, K : Analyses of peripheral blood mononuclear cells in operational tolerance after pediatric living donor liver transplantation. *American J. Transplantation.* 4 : 2118-2125, 2004.
- Matsubara, Y., Hori, T., Morita, R., Sakaguchi, S., and Uchiyama, T. : Phenotypic and functional relationship between



- adult T cell leukemia and regulatory T cells. *Leukemia* 19 : 482-483, 2005.
- Sakaguchi, S., and Sakaguchi, N. : History of CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells. *Progress in Inflammation Research*. In press.
- Nomura, T., and Sakaguchi, S. : Regulatory T cells in tumor immunity. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. In press.
- Chai, J.-G., Xue, S., Coe, D., Addey, C., Bartok, I., Scott, D., Simpson, E., Stauss, H. J., Hori, S., Sakaguchi, S., and Dyson, J. P. : T regulatory cells, derived from naïve CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells by in vitro Foxp3 gene transfer, can induce transplantation tolerance. *Transplantation*. In press.
- Sakaguchi, N., Takahashi, T., Hata, H., Nomura, T., Tagami, T., Yamazaki, S., Sakihama, T., Negishi, I., Nakatsuru, S., and Sakaguchi, S. : Altered thymic T-cell selection due to a spontaneous mutation of the ZAP-70 gene causes autoimmune arthritis. *Immunology 2004*. Medimond S.r.l., Bologna, Italy. p239-242, 2004.
- Setoguchi, R., Hori, S., Takahashi, T., and Sakaguchi, S. : A crucial role of IL-2 in the homeostatic maintenance of CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells. *Immunology 2004*. Medimond S.r.l., Bologna, Italy. p341-344, 2004.
- Ono, M., Shimizu, J., Miyachi, Y., and Sakaguchi, S. : Induction of fatal autoimmune myocarditis and other autoimmune diseases in mice by depleting Foxp3-expressing T cells. *Immunology 2004*. Medimond S.r.l., Bologna, Italy. p193-195, 2004.
- He, H., Messer, R.J., Sakaguchi, S., Yang, G., Robertson, S. J., and Hasenkrug, K. J. Reduction of retrovirus-induced immunosuppression by *in vivo* modulation of T cells during acute infection. *J. Virology*. 78 : 11641-7, 2004.
- Takahata, Y., Nomura, A., Takada, H., Ohga, S., Furuno, K., Hikino, S., Nakayama, H., Sakaguchi, S., Hara, T. : CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T cells in human cord blood : an immunoregulatory subset with naïve phenotype and specific expression of forkhead box p3 (Foxp3) gene. *Exp Hematol*. 32 : 622-629, 2004.
- Setoguchi, R., Hori, S., Takahashi, T., and Sakaguchi, S. A crucial role of IL-2 in the homeostatic maintenance of CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells : induction of autoimmune disease by neutralization of IL-2. *J. Exp. Med.* 201 : 723-735, 2005.
- Yagi, H., Nomura, T., Nakamura, K., Kitawaki, T., Hori, S., Maeda, M., Onodera, M., Uchiyama, T., Fujii, S., and Sakaguchi, S. : Crucial role of *FOXP3* in the development and function of human CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells. *Int. Immunol.* 16 : 1643-1656, 2004.
- Sakaguchi, S., Ko, K., Yamazaki, S., Nakamura, K., Hirota, K., and Nomura, T. : Regulatory T cells in tumor immunity. In *Cancer Immunotherapy*, edit. K. Toyoshima, J. C. Barrett, E. Klein, Y. Hashimoto, and H. Wakasugi. Princess Takamatsu Cancer Research Fund, Tokyo, P47-51, 2004.
- Kanamaru, F., Youngnak, P., Hashiguchi, M., Nishioka, T., Takahashi, T., Sakaguchi, S., Ishikawa, I., and Azuma, M. Costimulation via glucocorticoid-induced TNF receptor in both conventional and CD25<sup>+</sup> regulatory CD4<sup>+</sup> T cells. *J. Immunol.* 172 : 7306-7314, 2004.
- Fehervari, Z., and Sakaguchi, S. : Control of CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cell activation and function by dendritic cells. *Int. Immunol.* 16 : 1769-1780, 2004.
- Hata, H., Sakaguchi, N., Yoshitomi, H., Iwakura, Y., Sekikawa, K., Rennick, D., Azuma, Y., Kanai, C., Moriizumi, E., Nakamura, T., and Sakaguchi, S. Distinct contribution of IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1, and IL-10 to T cell-mediated spontaneous autoimmune arthritis in mice. *J. Clin. Invest.* 114 : 582-588, 2004.

- Nishimura, E., Sakihama, T., Setoguchi, R., Tanaka, K., and Sakaguchi, S. : Induction of antigen-specific immunologic tolerance by in vivo and in vitro antigen-specific expansion of naturally arising CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells. *Int. Immunol.* 16 : 1189–1201, 2004.
- Dittmer, U., He, H., Messer, R. J., Schimmer, S., Olbrich, A. R., Ohlen, C., Greenberg, P. D., Stromnes, I. M., Iwashiro, M., Sakaguchi, S., Evans, L. H., Peterson, K. E., Yang, G., Hasenkrug, K. J. : Functional impairment of CD8<sup>+</sup> T cells by regulatory T cells during persistent retroviral infection. *Immunity.* 20 : 1–20, 2004.
- Suri, A., Shimizu, J., Katz, J. D., Sakaguchi, S., Unanue, E. R., and Kanagawa, O. : Regulation of autoimmune diabetes by non-islet-specific T cells - a role for the glucocorticoid-induced TNF receptor. *Eur. J. Immunol.* 34 : 447–454, 2004.
- Kajiura, F., S. Sun, T. Nomura, K. Izumi, T. Ueno, Y. Bando, N. Kuroda, H. Han, Yi Li, A. Matsushima, Y. Takahama, S. Sakaguchi, T. Mitani and M. Matsumoto. 2004. NF- $\kappa$ B-inducing kinase establishes self-tolerance in a thymic-stroma dependent manner. *J. Immunol.* 172 : 2067–2075, 2004.
- Hori, S., and Sakaguchi, S. : Foxp3, a critical regulator of regulatory T cell development and function. *Microbes and Infection.* 6 : 745–51, 2004.
- Fehervari, Z., and Sakaguchi, S. : CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells. In “Measuring Immunity” eds. Michael Lotze and Angus Thompson, Elsevier. p322–335, 2005.
- Choi, B. K., Bae, J. S., Choi, E. M., Kang, W. J., Sakaguchi, S., Vinay, D. S., and Kwon, B. S. 4-1BB-dependent inhibition of immunosuppression by activated CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells. *J. Leukoc. Biol.* 75 : 785–791, 2004.
- Sakaguchi, S. : Naturally arising CD4<sup>+</sup> regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Ann. Rev. Immunol.* 22 : 531–562, 2004.
- Zhang, X., Koldzix, D.J., Izikson, L., Reddy, J., Nazareno, R. F., Sakaguchi, S., Kuchroo, V. K., and Weiner, H. L. IL-10 is involved in the suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis by CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells. *Int. Immunology.* 16 : 1–8, 2004.
- Fehervari, Z., and Sakaguchi, S. : Development and function of CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells. *Curr. Opinion in Immunol.* 16 : 203–208, 2004.
- Fehervari, Z. and Sakaguchi, S. : A paragon of self-tolerance : Regulatory T cells and the control of immune responses. *Arthritis Res. Ther.* 6 : 19–25, 2004.

## 2) 総説

- 小野昌弘, 坂口志文 : 新しい制御性 T 細胞-CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 細胞 内科 2004 Vol.93 No.2(209–212)
- 野村尚史, 坂口志文 : 内在性制御性 T 細胞 血液・免疫・腫瘍 2004 Vol.9 No.1(102–107)
- 堀 昌平, 坂口志文 : 内在性制御性 CD4<sup>+</sup>T 細胞分化のマスター制御遺伝子としての Foxp3 免疫 2004 Molecular Medicine Vol.40 臨時増刊号(159–166)
- 野村尚史, 坂口志文 : FoxP3 と CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>制御性 T 細胞 免疫研究のフロンティア 実験医学 増刊 2004 Vol.22 No.5(150–156)
- 坂口教子, 坂口志文 : 関節炎モデルマウス SKG と ZAP-70 異常 炎症と免疫 2004 Vol.12 No.3(345–350)
- 野村尚史 : IPEX 臨床看護 臨時増刊号 2004 Vol.30 No.6(963–965)
- 坂口教子, 坂口志文 : ZAP-70 遺伝子の変異による胸線 T 細胞選択の変化はマウスに自己免疫性関節炎を引き起こ

す カレントトピックス 実験医学 2004 Vol.22 No.9(1293-1295)

坂口志文, 坂口教子: 関節リウマチ動物モデル: 自然発症 SKG マウスと ZAP-70 異常 医学のあゆみ 2004 Vol.209 No.10(744-748), 2004

小野昌弘, 坂口志文: 抑制性 T 細胞 リウマチ科 2004 Vol.31 No.5(495-500)

山口智之・坂口志文: 腫瘍免疫における制御性 T 細胞 血液・腫瘍科 2004 48(5) : 544-548

坂口志文・山口智之: CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>制御性 T 細胞 Die Nische 2004.07/VOL.6(5-8)

坂口教子・坂口志文: SKG モデルマウスにおける ZAP-70 異常の分子機構 分子リウマチ 2004. Vol.1 No.3(3-7)

八木治彦・坂口志文: レギュラトリー T 細胞ファミリーの多様性 臨床免疫 2004 Vol.42 No.2(196-201)

坂口志文・坂口教子: ZAP-70 と関節炎 Mebio 2004 Vol.21 No10(14-17)

小野昌弘・坂口志文: 制御性 T 細胞と自己免疫 最新医学 2004 Vol.59 No.9(1982-1985)

瀬戸口留可・坂口志文: 内在性制御性 T 細胞と免疫自己寛容 医学のあゆみ 2004 Vol.211 No.6(634-636)

坂口教子・坂口志文: SKG モデルとシグナル異常 分子リウマチ 2004. Vol.1 No.4(24-29)

野村尚史, 坂口志文: 炎症と免疫応答(内在性制御性 T 細胞によるその制御)21 世紀の胃の炎症学(165-178)

---

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

Haruhiko Yagi, Takashi Nomura, Kyoko Nakamura, Toshio Kitawaki, Masafumi Onodera, Takashi Uchiyama, Shingo Fujii, and Shimon Sakaguchi : Crucial role of FOXP3 in the development of human CD25<sup>+</sup>4<sup>+</sup> regulatory T cells. Keystone Symposia Regulatory/Suppressor T Cells (2004.3.10-15. Banff Canada)

Zoltan Fehervari and Shimon Sakaguchi : Dendritic cells and the control CD25<sup>+</sup>4<sup>+</sup> T cells. Keystone Symposia Regulatory/Suppressor T Cells (2004.3.10-15. Banff Canada)

Shohei Hori, Takashi Nomura, and Shimon Sakaguchi : The transcription factor Foxp3 controls the development and function of naturally occurring CD4<sup>+</sup>regulatory T cells. Keystone Symposia Regulatory/Suppressor T Cells (2004.3.10-15. Banff Canada)

Masahiro Ono, Jun Shimizu, Yoshiki Miyachi, and Shimon Sakaguchi : Elimination of Foxp3<sup>+</sup> T cells by depleting GIT<sup>Rhigh</sup> T cells induces multiple severe organ-specific autoimmune diseases including fatal myocarditis. Keystone Symposia Regulatory/Suppressor T Cells (2004.3.10-15. Banff Canada)

Ruka Setoguchi and Shimon Sakaguchi : Neutralization of IL-2 breaks immunological self-tolerance by reducing the number of CD25<sup>+</sup>4<sup>+</sup>regulatory T cells. Keystone Symposia Regulatory/Suppressor T Cells (2004.3.10-15. Banff Canada)

Keiji Hirota, Kwiboom Ko, Sayuri Yamazaki, Jun Shimizu, Kyoko Nakamura, Tomoyuki Yamaguchi, Takashi Nomura, and Shimon Sakaguchi : Tumor Immunotherapy with anti GITR monoclonal antibody in mice. Keystone Symposia Regulatory/Suppressor T Cells (2004.3.10-15. Banff Canada)

BR Blazar, A Panoskaltis-Mortari, JS Serody, CJ Lees, MJ Ehrhardt, JM Swedin, WJ Murphy, RJ Noelle, BL Levine, CH June, S Sakaguchi, PA Taylor : The Role of CD25<sup>+</sup>4<sup>+</sup> regulatory(Treg) cells in allogeneic bone marrow transplantation. Keystone Symposia Regulatory/Suppressor T Cells (2004.3.10-15. Banff Canada)

Sergio A. Ouezada, Kathy A. Bennett, Shimon Sakaguchi and Randolph J. Noelle : Visualizing in vivo regulatory T cell

control induced by CD154 blockade and alloantigen during graft tolerance. Keystone Symposia Regulatory/Suppressor T Cells (2004.3.10-15. Banff Canada)

瀬戸口留可, 堀昌平, 高橋武司, 坂口志文: IL-2 の機能阻害による免疫自己寛容の破綻 第 14 回 Kyoto T Cell Conference(2004.6.4-5. 京都)

小野昌弘, 清水淳, 山口智之, ゴルタンフェヘヴァリ, 宮地良樹, 坂口志文: GITR<sup>high</sup>T 細胞の除去は Foxp3<sup>+</sup>T 細胞を駆逐し致死的自己免疫性心筋炎および多臓器の自己免疫病・湿疹様病変を誘導する 第 14 回 Kyoto T Cell Conference(2004.6. 4-5. 京都)

ゴルタンフェヘヴァリ, 坂口志文: Dendritic cells and the control CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T cells 第 14 回 Kyoto T Cell Conference(2004.6. 4-5. 京都)

M Ono, J Shimizu, Y Miyachi, and S Sakaguchi : Elimination of Foxp3<sup>+</sup> T Cells by Depleting GITR<sup>high</sup> T Cells Induces Multiple Severe Organ-Specific Autoimmune Diseases Including Fatal Myocarditis. 12<sup>th</sup> International Congress of Immunology(2004.7.18-23. Montreal Canada)

R Setoguchi, S Hori, T Takahashi, S Sakaguchi : Neutralization of IL-2 Breaks Immunological Self-Tolerance by Reducing CD25<sup>+</sup>4<sup>+</sup> Regulatory T Cells. 12<sup>th</sup> International Congress of Immunology(2004.7.18-23. Montreal Canada)

瀬戸口留可, 堀昌平, 高橋武司, 坂口志文: CD25<sup>high</sup>CD4<sup>+</sup>制御制 T 細胞の生体内維持に必須である IL-2 の供給源 第 34 回日本免疫学会学術集会(2004.12.1-3. 札幌)

小野昌弘, 清水淳, 山口智之, ゴルタンフェヘヴァリ, 宮地良樹, 坂口志文:

Foxp3 発現 T 細胞の除去による広範な自己免疫病の誘導 第 34 回日本免疫学会学術集会(2004.12.1-3. 札幌)

山口智之, 高橋武司, 坂口志文: 制御制 T 細胞と活性化 T 細胞を区別する抗体の作製とその腫瘍免疫への応用 第 34 回日本免疫学会学術集会(2004.12.1-3. 札幌)

中村恭子, 廣田圭司, ゴルタンフェヘヴァリ, 山口智之, 野村尚史, 坂口志文: CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>制御制 T 細胞における FoxP3, CTLA-4 の役割 第 34 回日本免疫学会学術集会(2004.12.1-3. 札幌)

西岡朋尚, 廣田圭司, 清水淳, 坂口志文: CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>制御制 T 細胞に対する GITRL の役割と腫瘍免疫誘導 第 34 回日本免疫学会学術集会(2004.12.1-3. 札幌)

八木治彦, 野村尚史, 藤井信吾, 坂口志文: 抗ヒト GITR モノクローナル抗体による CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>制御制 T 細胞の *in Vitro* 増殖抑制能の解除 第 34 回日本免疫学会学術集会(2004.12.1-3. 札幌)

Fehervari Zoltan, Takahashi Takeshi, Hirota Keiji, Sakaguchi Shimon : Generation of a novel antibody with a unique distribution pattern and capable of effectively perturbing both regulatory cell mediated suppression and boosting T cell responses 第 34 回日本免疫学会学術集会(2004.12.1-3. 札幌)

廣田圭司, 吉富啓之, 野村尚史, 坂口教子, 坂口志文: ZAP-70 突然変異の結果自己免疫性関節炎を自然発症する SKG マウスの末梢 CD4<sup>+</sup>T 細胞動態 第 34 回日本免疫学会学術集会(2004.12.1-3. 札幌)

杉本直志, Fehervari Zoltan, 小野昌弘, 内山卓, 坂口志文: TGF $\beta$ によるナイーブ CD4<sup>+</sup>T 細胞の Foxp3 遺伝子発現誘導の定量的解析 第 34 回日本免疫学会学術集会(2004.12.1-3. 札幌)

田中聡, 吉富啓之, 廣田圭司, 野村尚史, 坂口教子, 坂口志文: SKG マウスの ZAP-70 遺伝子突然変異による胸腺 T 細胞選択の偏倚と, その結果誘導される自己免疫疾患スペクトラムの変化 第 34 回日本免疫学会学術集会(2004.12.1-3. 札幌)

吉富啓之, 田中聡, 野村尚史, 坂口教子, 中村孝志, 坂口志文: 真菌・ $\beta$ -glucan による SKG マウス自己免疫性関節炎の惹起 第 34 回日本免疫学会学術集会(2004.12.1-3. 札幌)

松本満, 黒田範行, 石丸直澄, 新垣理恵子, 林良夫, 野村尚史, 坂口志文, 上野智雄, 高浜洋介, 松島明美: 遺伝性自己免疫疾患の原因遺伝子 AIRE (Autoimmune regulator) の機能解析 第 34 回日本免疫学会学術集会 (2004.12.1-3. 札幌)

岩井秀之, 矢野倫子, 橋口昌章, 宮坂信之, 坂口志文, 東みゆき:  $CD25^- CD4^+ T$  細胞および  $CD25^+ Treg$  に対する供刺激と  $CD25^- CD4^+ T$  細胞から供刺激によって誘導される IL-10 産生細胞による制御 第 34 回日本免疫学会学術集会 (2004.12.1-3. 札幌)

Li Ying, Koshiba Takaaki, Yosizawa Atushi, Ito Atushi, Egawa Hiroto, Sakaguchi Shimon, Minato Nagahiro, Wood Kathryn, Tanaka Kouichi: Analysis of peripheral blood mononuclear cells in operational tolerance after living-donor liver transplantation. 第 34 回日本免疫学会学術集会 (2004.12.1-3. 札幌)

## 2) 講演・シンポジウム

坂口志文: SKG マウスにおける自己免疫性関節炎の発症機構 第 1 回 Osteoimmunology Forum (2004.1.24. 東京)

Shimon Sakaguchi: Overview of regulatory T cells. 6<sup>th</sup> INTERNATIONAL CONFERENCE ON NEW TRENDS IN IMMUNOSUPPRESSION (2004.2.5-8. Salzburg Austria)

Shimon Sakaguchi: Immunologic self-tolerance maintained by naturally arising  $CD25^+ CD4^+$  regulatory T cells. Max Planck Institute for Neurobiology (2004.2.10. Munich, Germany)

坂口志文: 内在性  $CD25^+ CD4^+$  制御性 T 細胞 免疫制御 免疫監視 合同シンポジウム (2004.2.20. 京都)

坂口志文: リウマチ関節炎の原因・発症機構—動物モデルからのアプローチ 第 14 回兵庫県リウマチ医の会学術講演会 (2004.2.28. 神戸)

Shimon Sakaguchi: Naturally Arising  $CD25^+ CD4^+$  Regulatory T cells: Their Generation and Function Keystone Symposia Regulatory/Suppressor T Cells (2004.3.10-15. Banff Canada)

Shimon Sakaguchi: Naturally arising  $CD4^+$  regulatory T cells in immunologic tolerance and negative control of immune responses. European Society for Clinical Investigation 38<sup>th</sup> Annual Meeting (2004.4.14-17. Utrecht Netherlands)

Shimon Sakaguchi: Naturally arising  $CD4^+$  regulatory T cells in immunologic tolerance. FASEB Meeting Experimental Biology 2004 (2004.4.17-21. Washington DC USA)

坂口志文: 制御性 T 細胞と自己免疫 第 11 回広島大学・広島がんセミナー学術講演会 (2004. 5. 18 広島)

野村尚史: ヒト関節リウマチと酷似した病変を自然発症する SKG マウスについて 第 93 回日本病理学会総会 (2004.6.9-11. 札幌)

Takashi Nomura:  $CD25^+ CD4^+$  regulatory T cells in immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. 第 27 回日本基礎老化学会大会 (2004.6.17-18. 東京)

野村尚史: 制御性 T 細胞と免疫寛容 第 43 回日本輸血学会総会 (2004.6.23-25. 札幌)

Shimon Sakaguchi: A T-cell tolerance pathway of importance for arthritis in mice. Eular 2004 Annual European Congress of Rheumatology (2004.6.9-12. Berlin Germany)

Shimon Sakaguchi: Foxp3 and ZAP-70: two molecular clues to autoimmune disease. Deutsches RhumaForschungs Zentrum (2004.6.14. Berlin Germany)

Shimon Sakaguchi: The immunological status of drug free tolerant liver recipients: Regulatory T cells 11<sup>th</sup> N.A.T. Meeting (2004.6.17-18. Nantes France)

Shimon Sakaguchi : Naturally arising CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>regulatory T cells in immunologic self-tolerance and immunoregulation. 13<sup>th</sup> International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages(2004.7.1-2. Osaka)

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫制御：自己免疫・腫瘍免疫・移植免疫の共通基盤について。東京大学先端科学技術研究センターセミナー(2004.7.9. 東京)

Shimon Sakaguchi : SKG mice, a spontaneous model of RA The 10<sup>th</sup> Annual Meeting of the Workshop on Autoimmunity(2004.7.10. Tokyo)

Shimon Sakaguchi : Naturally Occurring CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>Regulatory T Cells in Immunologic Tolerance and immunosuppression. 12<sup>th</sup> International Congress of Immunology(2004.7.18-23. Montreal Canada)

Noriko Sakaguchi : Altered Thymic T-cell Selection Due to a Spontaneous Mutation of the ZAP-70 Gene Causes Autoimmune Arthritis. 12<sup>th</sup> International Congress of Immunology(2004.7.18-23. Montreal Canada)

Zoltan Fehervari : Regulatory T cell phenotype and function and the role of viruses in eliciting autoimmunity. 9<sup>th</sup> EASD /JDRF Oxford workshop(2004.8.6-9. Oxford UK)

Eiji Nishimura : Exploiting naturally arising CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells for induction of transplantation tolerance. XX international congress of the transplantation society(2004.9.5-10. Vienna Austria)

坂口志文：教育講演：制御性 T 細胞による免疫制御 第 66 回日本血液学会総会(2004.9.17-19. 京都)

坂口志文：制御性 T 細胞による移植免疫寛容誘導 第 66 回日本血液学会総会(2004.9.17-19. 京都)

坂口志文：IL-2 を介した制御性 T 細胞の制御 文部科学省特定領域研究 公開シンポジウム(2004.9.27. 東京)

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫応答制御 第 30 回免疫カンファレンス(2004.10.2. 京都)

Shimon Sakaguchi : Natural CD4<sup>+</sup> Regulatory T Cells in Tumor Immunity. CANCER VACCINES 2004 International Cancer Immunotherapy Symposia Series(2004. 10.4-6. New York USA)

Shimon Sakaguchi : Regulatory T cells in immunologic self-tolerance . Bernard Halpern Symposium of Immunology-College de France(2004.10.7-8. Paris France)

野村尚史：Murine autoimmune arthritis due to a spontaneous mutation of the ZAP-70 gene 第 32 回日本臨床免疫学会総会(2004.10.8-9. 東京)

Shimon Sakaguchi : Regulatory T cells in Autoimmunity. Faculte de Medecine Necker, Inserm(2004.10.12. Paris France)

Shimon Sakaguchi : Naturally arising CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>regulatory T Cells in Immunologic self-tolerance and immunoregulation. 8<sup>th</sup> International Symposium on Dendritic Cells(2004. 10.17-21. Brugge Belgium)

坂口志文：制御性 T 細胞を用いた移植免疫寛容の誘導 第 7 回中外造血フォーラム(2004.10. 23. 東京)

坂口志文：制御性 T 細胞とアレルギー 第 54 回日本アレルギー学会総会(2004.11. 4-6. 横浜)

坂口教子：ZAP-70 変異による関節リウマチモデルマウス 第 21 回日本疾患モデル学会総会(2004.11.11-12. 京都)

Shimon Sakaguchi : Regulatory T Cells in Immunologic Self-Tolerance and Negative Control of Immune Responses. The 14<sup>th</sup> Beckman Symposium, Immune Tolerance : Self Versus Non-self(2004. 11.12. Duarte USA)

Shimon Sakaguchi : Regulatory T Cells in Immunologic Self-Tolerance and Negative Control of Immune Responses. The UCSF immunology Seminar Series(2004. 11.15. San Francisco USA)

Shimon Sakaguchi : Genetic and environmental factors for the development of autoimmune diseases. The UCSF immunology Seminar Series(2004. 11.16. San Francisco USA)



Shimon Sakaguchi : Regulatory T Cells in Immunologic Self-Tolerance and Negative Control of Immune Responses.

Stanford University immunology Program weekly Seminar Series(2004. 11.17. Stanford USA )

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫寛容の誘導 第 20 回日本小児がん学会／第 46 回日本小児血液学会(2004. 11.21-23. 京都)

Shimon Sakaguchi : Regulatory T cells in transplantation tolerance. The 11<sup>th</sup> meeting of Transplantation/Immunoregulation 21(2004.11. 27. 東京)

Shimon Sakaguchi : Homeostatic maintenance of CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>regulatory T Cells via IL-2 secreted by other T cells : Induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization 第 34 回日本免疫学会学術集会(2004. 12. 1-3. 札幌)

坂口志文：制御性 T 細胞：免疫疾患の治療に向けて 免疫難病・感染症等の先進医療技術 第 1 回公開シンポジウム(2004. 12. 17. 品川)

(受賞)

William B. Coley Award for Basic Immunology and Tumor Immunology Cancer Research Institute.



## 生体システム制御学分野 Department of Medical Systems Control

分野主任 教授 長澤 丘司

*Prof. Takashi Nagasawa*

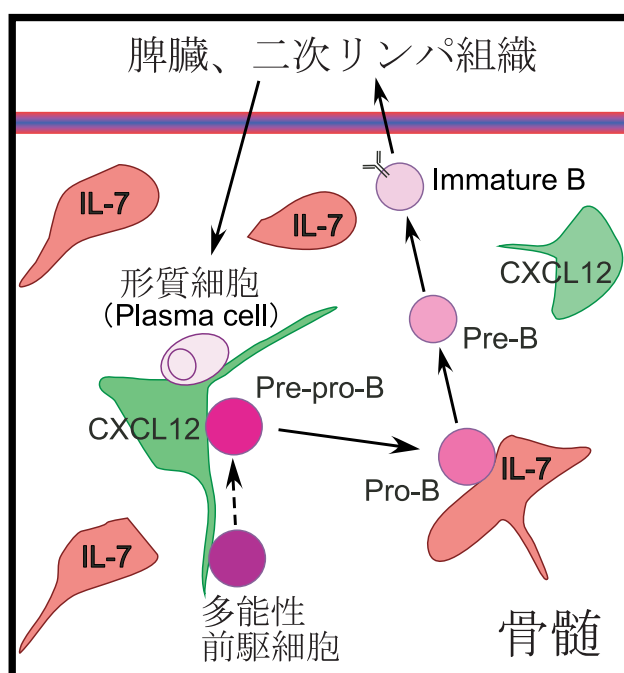
### 【研究概要】

発生過程における細胞動態(細胞の動き)の制御機構の解明は、高次生命機能の理解、再生医療いずれにおいても重要である。私たちは、これまで炎症時に局所へ白血球を誘導する分子群として知られていた走化性因子のファミリーであるケモカインファミリーの 1 つ CXCL12(SDF-1/PBSF)を B リンパ球前駆細胞の増殖を促進する分子として同定し(Nagasawa et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91 ;2305-2309(1994)), その生理的受容体が CXCR4 であり、これらの分子が、B リンパ球の生成、発生過程における骨髄への血液細胞のホーミング、心室中隔形成、胃腸管を栄養する大型の血管の形成に必須であることを見出した(Nagasawa et al. *Nature* 382, 635-638(1996) ; Tachibana et al. *Nature* 393, 591-594(1998) ; Egawa et al. *Immunity* 15, 323-334(2001))。更に、造血幹細胞や始原生殖細胞は、胎生期、発生過程においてダイナミックに移動することが知られているが、CXCL12 は、末梢血管から骨髄への造血幹細胞のホーミングに必須であり(Ara et al. *Immunity* 19, 257-267(2003))生殖腺への始原生殖細胞のホーミングにも関与することを明らかにした(Ara et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 5319-5323(2003))。これらの研究により、CXCL12 は、発生における幹細胞または前駆細胞の臓器間の細胞動態の制御に重要なサイトカインであることが示された。本年度は、成体の造血に焦点をあてた研究の中で、骨髄における幹細胞、前駆細胞の臓器内での細胞動態とこれにおける CXCL12 の役割についての新しい知見が得られた。

#### 〈本年度の研究〉

骨髄では、解剖学的に区分されていない空間で、9 種類以上の異なる系列の血球が生成されるが、その時間空間

的なメカニズムは、明らかでない。一方、CXCL12は、Bリンパ球の生成に必須であるが、Bリンパ球は、成体では骨髄内で、造血幹細胞から発生するので、CXCL12は、骨髄内で機能すると考えられる。2001年、私たちは、胎児および成体のBリンパ球造血において、最も早期の前駆細胞(pre-pro-B細胞)の発生にCXCL12が必須であることを明らかにした。この結果は、前駆細胞がBリンパ球に系列決定されると、Bリンパ球造血に適した骨髄内の特定の微小環境(ニッチ)へ移動定着し、CXCL12がその移動定着を支持する可能性を提示する。その場合CXCL12発現細胞がBリンパ球ニッチとなりうるので、私たちは、CXCL12の生理的な発現細胞を可視化することができるCXCL12遺伝子座にGFP遺伝子を挿入したマウス(CXCL12/GFPノックインマウス)を用いて成体骨髄内のCXCL12発現細胞を組織学的に解析した。これまで長年、骨髄内の造血を支持する細胞は形態的に識別される細網細胞として一括して考えられ、細網細胞は、接着因子VCAM-1を発現すると報告されている。ところが、CXCL12発現細胞は、VCAM-1陽性細胞の約4分の1にすぎず、単独で、一様に存在し、神経細胞のように突起を出していた。一方、IL-7は、pre-pro-B細胞の次の分化段階であり増殖の活発なpro-B細胞の発生に必須であることが知られているサイトカインである。そこで次にIL-7の発現細胞を免疫染色で解析したところ、興味深いことに、IL-7発現細胞は、CXCL12発現細胞とは別の細胞で、両者は離れて分布していた。更に私たちは、これらのサイトカイン発現細胞と、各分化段階のBリンパ球前駆細胞の局在を検討した。Bリンパ前駆細胞は、pre-pro-B細胞、pro-B細胞、pre-B細胞の順に分化が進行し、成熟したBリンパ球となる。私たちは、flk-2, c-kit, IL-7Rの発現を指標に、pre-pro-B細胞、pro-B細胞、pre-B細胞を可視化したところ、大部分のpre-pro-B細胞はCXCL12発現細胞に接着し、大部分のpro-B細胞は、CXCL12発現細胞から離れており、IL-7発現細胞に接着していた。更に、次の分化段階のpre-B細胞は、CXCL12発現細胞、IL-7発現細胞いずれとも接着していなかった。これらの結果より、骨髄内のBリンパ球造血のニッチがはじめて同定され、分化段階の進行により、前駆細胞はCXCL12発現細胞からIL-7発現細胞へニッチ間を移動することが明らかとなった。更に、多能性造血前駆細胞を濃縮するSca-1+c-kit+細胞の局在を解析すると、大部分がCXCL12発現細胞の突起に結合していた。この結果は、多能性造血前駆細胞がBリ



骨髄の中で、造血におけるの分化段階特異的ニッチ細胞が同定され、Bリンパ球の分化に伴う特異的な局在とニッチ間の移動が示された。

ンパ球に系列決定されると、**CXCL12** 発現細胞の突起上を、細胞体に向かって移動している可能性を提示し、興味深い。

一方、骨髄で分化を完了した未熟 **B** リンパ球は、骨髄から末梢血管を経て脾臓に至り、抗原刺激を受け抗体産生に特化した形質細胞に分化したあと、多くが再び骨髄に帰ることが古くから知られている。**CD19** プロモーターにより、成熟 **B** リンパ球以降の分化段階で **B** リンパ球特異的に **CXCR4** を欠損させたマウスでは、脾臓の形質細胞数は、著差ないが、骨髄の形質細胞は著明に減少していた。さらに、骨髄内での形質細胞の局在を解析したところ、大部分が **CXCL12** 発現細胞に接着していた。これらより、形質細胞の骨髄へのホーミングに **CXCL12/CXCR4** は必須であり、最終分化した **B** リンパ球である形質細胞は、最も早期の **pre-pro-B** 細胞と同じニッチ細胞に局在することが明らかとなった。

以上より、私たちは、骨髄における **B** リンパ球の分化段階特異的ニッチ細胞をはじめて同定し、血液細胞の分化に伴う統制されたニッチでの局在とニッチ間の移動をはじめて明らかにした。更に、**CXCL12** は、特定のニッチでの前駆細胞の局在と維持を制御していることが強く示唆された(Tokoyoda et al. 2004)。

Chemokines are a family of small structurally related molecules that were recognized originally for their ability to regulate cell trafficking in inflammation. We isolated a chemokine, CXC chemokine ligand 12/stromal cell-derived factor/pre-B-cell growth stimulating factor(**CXCL12/SDF-1/PBSF**) as a molecule that stimulates the growth of B lymphocyte precursors(Nagasawa T et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91 ; 2305-2309(1994)) and have found its multiple physiological functions in development. We have shown that **CXCL12** is essential for embryonic viability, development of B lymphocyte, colonization of bone marrow by hematopoietic cells and cardiogenesis(Nagasawa T et al. *Nature* 1996). Moreover, we have revealed that a primary physiologic receptor for **CXCL12** is a seven-transmembrane G-protein-coupled receptor **CXCR4** that also functions as a coreceptor for strains of HIV-1(Nagasawa et al. *Nature* 382, 635-638 (1996) ; Tachibana et al. *Nature* 393, 591-594(1998) ; Egawa et al. *Immunity* 15, 323-334(2001)). In addition, we have found that **CXCL12** and **CXCR4** chemokine ligand receptor system is also required for vascularization of the gastrointestinal tract, that defined a new signalling system for organ vascularization during embryogenesis(Tachibana et al. *Nature* 393, 591-594(1998)).

Stem cells and/or progenitor cells migrate and colonize during development. Recently, we found that **CXCL12** plays a critical role in colonization of bone marrow by hematopoietic stem cells(HSCs)(Ara et al. *Immunity* 19, 257-267 (2003)) and is involved in murine primordial germ cells(PGCs) development likely by controlling colonization of the gonads by PGCs(Ara et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 5319-5323(2003)), revealing the key roles of **CXCL12** in mobilization of hematopoietic cells between organs during ontogeny. In this year, we have studied mobilization of hematopoietic cells within hematopoietic organs and the roles of **CXCL12** in these processes.

\*

B lymphocytes are generated from HSCs and develop within bone marrow and dependency on **CXCL12** appears at the earliest stages, pre-pro-B cells. We have found that **CXCL12**-expressing cells are a small population of stromal cells, had several processes, are scattered throughout bone marrow and located some distance from the cells expressing interleukin(IL)-7. Multipotent hematopoietic progenitors are attached to the processes of **CXCL12**-expressing cells and pre-pro-B cells adjoin their cell bodies. Maturer pro-B cells, which require IL-7, have moved away and adjoin the IL-7-expressing cells. Maturer pre-B cells are not in contact with IL-7-expressing cells. Furthermore, the end-stage B cells,

plasma cells again seed CXCL12-expressing cells. Thus, we have identified stage-specific niches for B lymphopoiesis, demonstrated the B lymphocyte characteristic location and movement between specific niches within bone marrow during development and suggested that CXCL12 maintains the precursors in the niche. Together, CXCL12 is likely to play a critical role in the interaction of hematopoietic cells with the specific cellular niches in bone marrow (Tokoyoda et al. 2004). Further study will be needed to show how CXCL12 and other cytokines mediate this interaction in hematopoiesis.

## 【業績目録】

### ◆ 誌上発表 ◆

#### 1) 英文原著

Tokoyoda, K., Egawa, T., Sugiyama, T., Byung-I Choi and Nagasawa, T. Cellular niches controlling B lymphocyte behavior within bone marrow during development. *Immunity* 20 ; 707-718, 2004

Ara, T., Tokoyoda, K., Okamoto, R., Koni, P. A., and Nagasawa, T. The role of CXCL12 in the organ-specific process of artery formation. *Blood* in press

#### 2) 和文総説

長澤丘司：CXCL12 研究の新展開. 最新医学 59 872-881 (2004).

長澤丘司：幹細胞の生着. 再生医学(Molecular Medicine 臨時増刊号)40 72-78(2004)

長澤丘司：CXCL12(SDF-1/PBSF)による幹細胞, 前駆細胞の動態制御. サイトカイン(医学のあゆみ 別冊)p198-201(2004)

長澤丘司：CXCL12(SDF-1/PBSF)とその受容体 CXCR4. サイトカイン・ケモカインのすべて. (日本医学館, 2004)

長澤丘司：ケモカイン. 血液の事典 (朝倉書店, 2004)

長澤丘司：サイトカイン, ケモカイン. 再生医療へのブレイクスルー(遺伝医学 Mook)p60-67(2004).

### ◆ 学会等の発表 ◆

#### 1) 学会・研究会発表

- ・長澤丘司, 常世田好司. 血球の発生における臓器間, 臓器内細胞動態制御と骨髄内細胞性ニッチ. 第 27 回日本分子生物学会ワークショップ「高次生命現象を支える ECM 環境と細胞のクロストーク」(2004.12.10. 神戸)
- ・常世田好司, 柴川 健, 杉山立樹, 長澤丘司. 骨髄における B リンパ球の分化段階特異的ニッチと CXCL12 による細胞動態制御. 第 34 回日本免疫学会総会(2004.12.1. 札幌)

#### 2) 招待講演

T. Nagasawa : The role of CXCL12 in the Ontogeny of bone marrow hematopoietic stem cells and Lymphopoiesis. 46<sup>th</sup> ASH annual meeting and exposition, Scientific Program, The role of chemokines and their receptors in hematopoiesis. (Dec. 4-7, 2004, SAN DIEGO. USA)

## 生体組織工学研究部門

### 生体分子設計学分野 Department of Cellular Differentiation

分野主任 教授 開 祐司

Prof. Yuji Hiraki

#### 【研究概要】

本研究分野では、組織血管化、軟骨・骨・腱・靱帯形成とその再生修復の分子機構の解明を主たるテーマとして、動物モデル、細胞培養系を駆使して分子レベルでの解析を行っている。現在の研究テーマは以下の通りである。

#### 1. 間葉組織の血管化と血管新生抑制因子

##### (1) 間葉組織の血管侵入障壁の分子機構に関する研究

脊椎動物の付属肢は、器官形成の初期に肢芽として胚の体幹の側面に出現する。肢芽の血管網は、まず間葉全体に構築されるが、その後、軟骨性骨原基が形成される領域において血管網が縮退し、無血管領域が出現する。胚発生過程では、血管は細胞に酸素や栄養素を供給するために必要であると考えられるが、付属肢の軟骨性骨原基の形成領域においては、血管が存在することにより軟骨形成が阻害されることが明らかとなっている。このことから、正常な付属肢の形成には、血管網の形成と縮退が正確に調節されていることが不可欠であると考えられる。我々は、血管内皮増殖因子 VEGF-A、或いは VEGF-A のデコイレセプターとして機能する soluble Flt-1 の強制発現により、ニワトリ胚の前肢芽形成過程における血管形成の促進と抑制をコントロールし、血管縮退と血管新生が付属肢の軟骨形成に及ぼす影響を検討している。

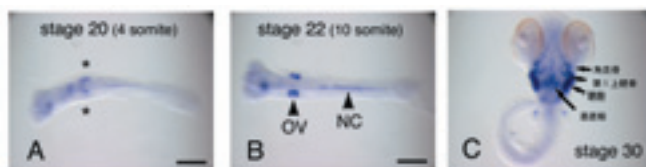


図 1

メダカ胚におけるコンドロモジュリン-I の発現を in situ hybridization により調べた。メダカコンドロモジュリン-I は、耳胞の形成に伴って、耳胞で発現した(A, stage 20\*印, B, stage 22 矢頭。OV: 耳胞, bar: 20 micrometer)。また、この時期の脊索(矢頭, NC: 脊索)においても発現が見られた。軟骨形成期である stage 30 では、頭顔面の軟骨において発現が見られた(c)。

##### (2) 小型魚類を用いた血管新生抑制因子の発現解析

発生過程においては、血管新生促進因子と血管新生抑制因子の発現が、時間的、空間的に制御され、血管化される領域と無血管な領域が決定されて血管形成が行われると考えられる。哺乳類においては、胎内で発生が進行するため血管形成過程の観察が困難であるが、魚類は卵生で発生が体外で進行し、胚も透明なため血管形成の経時的観察が可能である。また魚類は哺乳類に比べて発生が早く、多くの胚を迅速に操作できるなどの利点を持つ。そこで我々は、メダカ及びゼブラフィッシュを用いて、血管形成過程における血管新生抑制因子の発現解析を行っている。哺乳類の軟骨由来の血管新生抑制因子である Chondromodulin-I

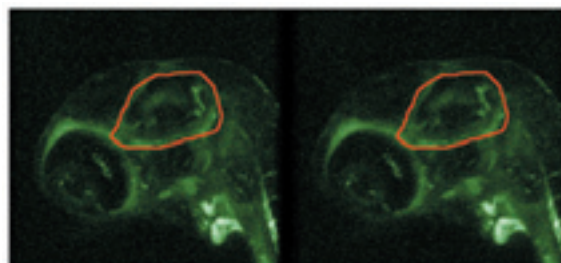


図 2

メダカ胚の血管に蛍光デキストランを注入し、共焦点顕微鏡を用いて血管の走行を観察した。写真は、9 日目メダカ胚頭部を約 10 ミクロン間隔で光学的に連続切片化した画像を元に、立体視できるように再構築した。赤で囲った領域が耳胞で、耳胞の周囲には血管が走行しているが、耳胞内には血管が通っていない。

(ChM-I)のメダカホモログをクローニングしたところ、他の脊椎動物の ChM-I と同様によく保存された血管新生抑制ドメインを有していた。メダカ ChM-I の発現は、頭蓋軟骨原基 (図 1, C) のみならず、脊索、後脳、耳胞に検出された。後脳における発現は体節形成の直前に帯状に始まり、その後耳胞原基に発現が限局し (図 1, A \*), 耳胞の形成に伴って発現が増強した (図 1, B)。胚の血管への蛍光色素の注入によって、耳胞は血管が乏しく、血管の走行も限定されている組織であることが明らかになった (図 2)。

### (3) Tenomodulin の血管新生抑制活性

ChM-I に相同性を有する遺伝子としてクローニングした新規関連遺伝子 *Tenomodulin* (TeM) は、血管に乏しい腱・靱帯のみならず、血管侵入抵抗性組織として知られている眼の水晶体、角膜、強膜などの無血管領域に発現している。TeM は、8つのシステインを含む ChM-I 様ドメインを C 末端側に持つ、II 型の膜貫通型タンパク質である。TeM にプロセッシングシグナルを導入し、TeM の ChM-I 様ドメインを含む領域を分泌タンパク質としてアデノウイルスを用いて発現させたところ、*in vitro* で、管腔形成、血管内皮細胞の増殖・遊走を阻害することが明らかになった。また、*in vivo* においても血管新生を阻害して腫瘍の増大を抑制する活性を有することから、ChM-I 様モチーフを用いた癌治療への応用が期待される。

## 2. 軟骨分化制御の分子機構に関する研究

内軟骨性骨形成過程では、未分化間葉細胞から凝集過程を経て分化した軟骨細胞が、さらに分化成熟を遂げて肥大化し、周囲の基質が石灰化する。我々は、このような軟骨の多段階分化過程を、EC 細胞由来 ATDC5 を用いて *in vitro* で再現することができる培養系を構築した。本培養モデルを用いて、BMP4 によって誘導される軟骨初期分化過程における遺伝子発現を SAGE (Serial Analysis of Gene Expression) 法により網羅的に解析した。その結果、初期軟骨分化誘導過程において、BMP4 応答性の遺伝子群を同定することが出来ただけでなく、これらの遺伝子群の中には、染色体上でクラスターを作っているものが存在することが明らかになった。更に、現在、軟骨の多段階分化を制御する遺伝子群の同定と機能の解明を目指して、ATDC5 細胞の未分化期、成熟期、肥大化・石灰化期における遺伝子発現プロファイリングを行っている。これらのトランスクリプトーム解析は、独立行政法人日本学術振興会の日独共同研究として、ドイツの GSF Research Center for Environment and Health の Institute of Developmental Genetics と共同で行っている。

## 3. 腱・靱帯分化制御の分子機構に関する研究

腱・靱帯は、I 型コラーゲンが規則正しく平行に走行する白色不透明の強靱結合組織に分類され、独自の強靱さを保持して筋肉と骨格系あるいは骨と骨の間を連結する重要な役割を果たしている。しかしながら、これまでこれらの組織を特徴付ける特異的分子マーカーが欠如していたので、その分化誘導機構の解析はほとんどなされていなかった。我々が ChM-I 関連遺伝子として同定した TeM は、腱・靱帯を含む強靱結合組織の分化に伴って発現が誘導され、腱・靱帯の細胞を特徴付けるマーカーとしての有効性が期待されている。ニワトリ胚を用いた解析では、前駆腱細胞や腱細胞で発現する転写因子である *Scleraxis* (Scx) を過剰発現させると、腱細胞での TeM の発現が上昇することが明らかになった。一方、ニワトリ前肢に Scx を強制発現させても、軟骨、筋肉、疎性結合組織などで異所性の腱形成や TeM の発現を誘導することはできなかった。また、軟骨細胞で Scx を過剰発現させると、標的遺伝子である *aggrecan* の発現は上昇するが、TeM の発現は誘導されないことから、TeM の mRNA の発現上昇は、*cell lineage* 特異的に制御されている可能性が示唆された。

## 4. 関節軟骨の修復に関する研究

軟骨性骨原基として形成された軟骨は、発生・成長過程で大部分が骨に置換し、成体ではわずかに関節表面を覆うのみである。血管に富み旺盛な再生能力をもつ骨組織とは逆に、関節軟骨は極めて再生能力に乏しい組織で



ある。関節表面の軟骨が損傷を受けると容易に変形性関節炎へ移行し、関節表面を硝子軟骨で再生させることは極めて困難である。本研究室では、ウサギ及びラット関節軟骨全層欠損モデルを用いて、軟骨再生修復の機構を解析している。本修復モデルは軟骨初期分化を解析する有用な *in vivo* モデルであり、軟骨再生に必要な組織幹細胞の増殖・分化制御の分子機序の解明と臨床応用に結実するものと期待される。とりわけ、増殖分化因子による骨髄幹細胞系を刺激することによる軟骨再生の誘導技術の開発に重点をおいている。

#### 5. 軟骨・骨の増殖分化を制御する Chondromodulin-II に関する研究

**Chondromodulin-II (ChM-II)** は軟骨細胞の増殖促進活性を基にウシ胎仔骨端軟骨抽出物から精製・同定された新規分泌性因子である。**ChM-II** は軟骨細胞の増殖だけでなく、骨芽細胞の増殖、破骨細胞の成熟化をそれぞれ促進させる作用を有し、骨・軟骨組織の増殖・分化制御に関与することが示唆されている。また、**ChM-II** タンパク質が軟骨基質中に豊富に存在するにも関わらず、その遺伝子発現は軟骨では検出されず、肝実質細胞特異的であった。このことは **ChM-II** タンパク質が肝臓で合成された後、血流を介して軟骨に蓄積する可能性を示唆している。肝疾患の合併症として骨粗鬆症などが知られており、肝臓由来因子の骨・軟骨制御における重要性と疾患への関与が想定されているものの、その実体は明らかにされていない。我々は **ChM-II** が、肝臓と骨・軟骨組織を仲介する因子の一つであると考え、その詳細な生理機能、軟骨基質への局在機構、肝臓特異的な mRNA 発現機構などについて、細胞および個体レベルでの解析を進めている。(文責 開, 宿南, 近藤)

The proper growth and differentiation signaling from the surrounding extracellular environment regulates tissue formation and its functions. We are aiming at the elucidation of molecular interactions and signaling networks underlying mesenchymal vascularization or cartilage, bone and tendon/ligament formation. Our current research efforts are focused on the following studies.

#### 1. Vascularization of mesenchyme and anti-angiogenic factors

##### (1) Anti-angiogenic barrier in mesenchyme

In the early stages of limb outgrowth, the vascular network develops throughout the limb mesenchyme. As limb development proceeds and the limb grows out from the flank of the embryo, a vascular network becomes more complex in association with the increase of vessel density. However, just prior to precartilaginous condensation, vasculature regresses at the sites of mesenchymal condensation that defines the pattern of cartilaginous bone molds, whereas the rest of the limb vasculature is maintained normally. It is believed that vascular regression is essential for the subsequent formation of cartilage, which is a typical avascular tissue. Following chondrogenesis and the subsequent proliferation and maturation of chondrocytes in the developing cartilaginous bone mold, blood vessels invade the calcified hypertrophic cartilage to lead to the replacement of cartilage by bone. Thus, dynamic changes of vasculature are closely associated with development of the skeletal elements in the developing limb. Although molecular mechanism and roles of angiogenesis during replacement of cartilage by bone are well established, it is still not clear whether vascular regression is related to cartilage development. Taking advantage of *in ovo* electroporation, we misexpressed soluble Flt-1 in the developing forelimb to explore the interactions between remodeling of the limb vasculature and cartilage development.

##### (2) Expression of Medaka *Chondromodulin-I* in the avascular region of the otic vesicle during inner ear development

In vertebrates, inner ear develops from the otic placode, a thickening of the embryonic ectoderm adjacent to the hindbrain. In fish, the placode cavitates to form otic vesicle that develops into the structures of inner ear such as mem-

branous labyrinth and neurons of the statoacoustic ganglion. In this study, we visualized the vascular network of the medaka embryo by injecting FITC-dextran. Confocal microangiography revealed that the otic capsule was devoid of blood vessels, suggesting that there is a tight regulation to exclude vascular development in the otic vesicle. We focused on *chondromodulin-I* (*chm-I*), a cartilage derived angiogenesis inhibitor in mammals and found that *chm-I* was expressed from the early stages of the medaka inner ear development prior to extracellular matrix formation of otic vesicle. Thereafter *chm-I* transcripts were expressed in the developing cartilage of the whole body. Expression of *chm-I* in the avascular region suggests that it may participate in vascular patterning as a negative regulator during medaka development.

### (3) Anti-angiogenic activity of tenomodulin

We cloned *tenomodulin* (*TeM*) as a ChM-I related gene. TeM transcripts have been found in hypovascular tissues such as tendons, ligaments, epimysium of skeletal muscle, and sclera. Using an adenovirus expression system, we utilized the forced expression and subsequent secretion of the human TeM C-terminal 116 amino acids (Ad-shTeM) in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) to assess the anti-angiogenic properties of TeM. The C-terminal 120 amino acids of the human ChM-I precursor (Ad-shChM-I) was also expressed in HUVECs as a comparison study. Transduction of both Ad-shTeM and Ad-shChM-I resulted in significant impairment of the tube forming activity of HUVECs in matrigel. In a modified Boyden chamber assay, migration of HUVECs in response to VEGF was significantly affected following transduction of either Ad-shTeM or Ad-shChM-I. The transduction of either Ad-shTeM or Ad-shChM-I in human melanoma cells resulted in suppression of tumor growth in association with decreased vessel density *in vivo*. Hence, we have demonstrated that, similarly to ChM-I, the C-terminal domain of TeM exhibits both anti-angiogenic and anti-tumor activities.

## 2. Molecular mechanism of chondrogenic differentiation

During endochondral bone formation, undifferentiated mesenchyme condense to form the cartilaginous bone mold. In the developing cartilaginous mold, chondrocytes rapidly proliferate to synthesize a large amount of extracellular matrices such as type II collagen and aggrecan and mature to become hypertrophic. Then extracellular matrices around hypertrophic chondrocytes calcify. Subsequently, vascular invasion occurs and calcified cartilage is gradually replaced by bone through cooperative actions of osteoclasts/chondroclasts and osteoblasts. We previously established *in vitro* model of chondrogenic differentiation by using mouse embryonal carcinoma cell line ATDC5, which is currently used as one of the standard chondrogenic cell lines in the field of cartilage and bone mineral research. We have performed Serial Analysis of Gene Expression (SAGE) method and analyzed transcripts derived from ATDC5 cells before and after the induction of chondrogenesis induced by BMP4. A total of 43,656 SAGE tags (21,875 and 21,781 tags from uninduced and induced libraries, respectively), corresponding to 17,166 unique transcripts, were identified. This analysis predicted that a total of 139 transcripts are differentially expressed, reflecting multiple changes in activities of cell biological processes after the induction of chondrogenesis. Taking advantage of *in vitro* model of chondrogenic differentiation, we have also started the joint research project supported by JSPS (Japan Society for the Promotion of Science) in collaboration with Institute of Developmental Genetics (GSF-National Research Center for Environment and Health, Germany) for identification and functional analysis of genes that control chondrogenic differentiation during endochondral bone formation.

### 3. Regulatory mechanism of tendogenesis/ligamentogenesis.

Fibroblasts in tendons (tenocytes) and ligaments *in vivo* are histologically distinct as characterized by the longitudinal rows of winged cells separated by type I collagen. However, these cells are almost indistinguishable from fibroblasts in loose connective tissues *in vitro* since their histological characteristics are lost. Due to a lack of the specific differentiation-markers, little is known about the molecular mechanism underlying tendogenic or ligamentogenic differentiation. We found that *TeM* transcripts were induced during tendogenesis/ligamentogenesis and specifically expressed *in vivo* in fibroblasts consisting of tendons, ligaments, and epimysium. Expression of *TeM* in tenocytes was upregulated by retroviral expression of *Scleraxis* that is a basic helix-loop-helix transcription factor and a marker for tendon progenitors and tenocytes. However, *TeM* was not induced in tibial chondrocytes overexpressing *Scx*. Ectopic expression of *Scx* in the developing forelimbs also could not induce either excess tendons or induction of *TeM* in cartilage, muscle and loose connective tissues. Thus, these lines of evidence suggest requirement of additional signals in non-tendinous cell lineage for induction of tendogenesis and expression of *TeM*.

### 4. Molecular mechanisms of cartilage regeneration

Cartilage is formed as a major skeletal element in mammalian embryos. It is, however, rapidly replaced by bone during development, and only remains as a thin layer of tissue that covers an articular surface. Bone contains abundant vasculature, and readily undergoes regenerative repair in response to damages of tissue. In contrast to bone, articular cartilage has a very limited capacity for repair. Cartilaginous lesion easily causes osteoarthritis. Therefore articular cartilage has been a target tissue in regenerative medicine. Full-thickness defects that penetrate articular cartilage undergo repair processes that result in the generation of either fibrous tissue or hyaline cartilage depending on the defect size. Multipotent mesenchymal cells participate in these processes. Taking advantage of the tissue-repair system as a model, we are studying the regulation of growth and differentiation of chondrogenic mesenchymal cells *in vivo*. Especially we have been attempting to explore protocols applicable to a clinical use for induction of cartilaginous regeneration by growth and differentiation factors.

### 5. Functional Analysis of Chondromodulin-II

We previously isolated a cartilage-derived factor, Chondromodulin-II (ChM-II), based on an activity to stimulate chondrocyte growth. Further analysis revealed that ChM-II also have activities to stimulate osteoclast differentiation and osteoblast growth, suggesting multiple roles of ChM-II in regulating bone and cartilage formation and remodeling. Surprisingly, although ChM-II protein was abundant in cartilage extracellular matrix, its gene expression was not detected in cartilage, but localized specifically in liver. These data suggest that ChM-II protein is synthesized in liver, secreted into blood circulation and then accumulated in cartilage by an unknown mechanism. In this laboratory, we are studying about ChM-II mainly using the cell culture or small fish *in vivo* systems. Our current interests are in the physiological function of ChM-II, the molecular basis for ChM-II accumulation in cartilage and the mechanism of ChM-II expression in liver. Suggested from that osteoporosis is a common complication of chronic liver diseases, liver-derived factors are thought to be important in bone and cartilage regulation or pathogenesis. Since ChM-II is thought to be one of the mediators between liver and bone or cartilage tissues, elucidation of its function is expected to contribute to understanding of the molecular basis for complications of liver diseases.

## 【業績目録】

## ◆ 誌上発表 ◆

## 1) 原著論文

- Wahl, M., Shukunami, C., Heinzmann, U., Hamajima, K., Hiraki Y., Imai, K. : Transcriptome analysis of early chondrogenesis in ATDC5 cells induced by BMP4. *Genomics* **83**(1) : 45-58 (2004)
- Setoguchi, K., Misaki, Y., Kawahata, K., Shimada, K., Juji, T., Tanaka, S., Oda, H., Shukunami, C., Nishizaki, Y., Hiraki, Y., Yamamoto, K. : Chondromodulin-I, a cartilage-derived angiogenesis inhibitory factor, suppresses T cell response ; an implication of a therapeutic potential for arthritis. *Arthritis Rheumat.* **50**(3) : 828-839 (2004)
- Oshima, Y., Sato, K., Tashiro, F., Miyazaki, J., Nishida, K., Hiraki, Y., Tano, Y., Shukunami, C. : Anti-angiogenic action of the C-terminal domain of tenomodulin that shares homology with chondromodulin-I. *J. Cell Sci.* **117**(13) : 2731-2744 (2004)
- Jain, S., Watson, M.A., DeBenedetti, M.K., Hiraki, Y., Moley, J.F., Milbrandt, J. : Molecular Basis for the Aggressive Tumor Phenotype and Skeletal Abnormalities in Multiple Endocrine Neoplasia type 2B Syndrome. *Cancer Res.* **64** : 3907-3913 (2004)
- Mizuta, H., Kudo, S., Nakamura, E., Otsuka, Y., Takagi, K., Hiraki, Y. : Active proliferation of mesenchymal cells prior to the chondrogenic repair response in rabbit full-thickness defects of articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* **12**(7) : 586-596 (2004)
- Hosokawa, Y., Takabayashi, H., Miura, S., Shukunami, C., Hiraki, Y., Masuhara, H. : Nondestructive isolation of single cultured cells by femtosecond laser-induced shockwave. *Appl. Phys. A* **79** : 795-798 (2004)
- Chuma, H., Mizuta, H., Kudo, S., Takagi, K., Hiraki, Y. : One day exposure to FGF-2 was sufficient for the regenerative repair of full-thickness defects of articular cartilage in rabbits. *Osteoarthritis Cartilage* **12**(10) : 834-842 (2004)

## 2) 著書および総説

- 開 祐司：第 18 章 再生医学の現状と将来. 「生命科学」(編集, 柳田充弘, 佐藤文彦, 石川冬木, 東京科学同人, 東京)165-173(2004)
- 細川陽一郎, 高林淳一, 宿南知佐, 開 祐司, 増原 宏：フェムト秒レーザー誘起衝撃波による細胞操作. レーザー研究 **32**(2) : 94-98(2004)
- 開 祐司, 宿南知佐：再生誘導に向けた組織幹細胞の増殖分化制御とレーザー技術. レーザー研究 **32**(2) : 99-104 (2004)
- 開 祐司：血管新生を抑制する調節系(Negative Control of the Mechanism Underlying Tissue Vascularity). *Medical Science Digest*(メディカル・サイエンス・ダイジェスト)**30**(11) : 448-451(2004)

## ◆ 学会等の発表 ◆

## 1) 学会・研究会発表

- Oshima, Y., Hiraki, Y., Tano, Y., Shukunami, C. : Anti-angiogenic action of a chondromodulin-I like domain of tenomodulin that is expressed in hypovascular dense connective tissues. *Developmental Vascular Biology Work-*

shop (2004.2.1-5. Asilomar)

Nishizaki, Y., Shukunami, C., Hiraki, Y. : Medaka (*Oryzias Latipes*) Chondromodulin-I, a cartilage-derived angiogenesis inhibitor, is expressed in the notochord and otic placode. Developmental Vascular Biology Workshop (2004.2.1-5. Asilomar)

西崎有利子, 宿南知佐, 開祐司: メダカ Chondromodulin-I は, 脊索, 耳胞, 頭蓋軟骨原基に発現する. 第 17 回日本軟骨代謝学会(2004.3.12-13. 東京)

三浦重徳, 角花美和, 伊東良太, 滝本品, 西崎有利子, 開祐司, 宿南知佐: 分泌型血管新生抑制因子 Chondromodulin-I と膜貫通型血管新生抑制因子 Tenomodulin は間葉系組織の無血管ゾーンに異なったパターンで特異的に発現する. 第 17 回日本軟骨代謝学会(2004.3.12-13. 東京)

滝本品, 宿南知佐, 開祐司: ニワトリ胚における血管網形成過程と chondromodulin-I の発現局在. 第 17 回日本軟骨代謝学会(2004.3.12-13. 東京)

高林淳一, 細川陽一郎, 三浦重徳, 宿南知佐, 開祐司, 増原宏: 集光フェムト秒レーザービームを用いた単一生細胞の操作(5)-単一動物細胞と細胞外マトリックスとの吸着力の評価-. 日本応用物理学会春季講演会(2004.3.28-31. 八王子)

安國良平, 高林淳一, 細川陽一郎, 三浦重徳, 西崎有利子, 宿南知佐, 開祐司, 増原宏: フェムト秒レーザー誘起衝撃波による動物細胞への遺伝子導入. 日本応用物理学会春季講演会(2004.3.28-31. 八王子)

滝本品, 角花美和, 開祐司, 宿南知佐: 血管新生抑制因子 Tenomodulin は腱・靱帯原基の形成に伴って発現が誘導される. 第 51 回マトリックス研究会(2004.4.9-10. 京都)

油形公則, 松井好人, 宿南知佐, 後東知宏, 浜田佳孝, 浜田大輔, 開祐司, 安井夏生: ウサギ Tenomodulin の cDNA クローニング. 第 51 回マトリックス研究会(2004.4.9-10. 京都)

三浦重徳, 宿南知佐, 開祐司: Chondromodulin-I は胚着床に伴い脱落膜で発現する. 第 51 回マトリックス研究会(2004.4.9-10. 京都)

西崎有利子, 宿南知佐, 開祐司: Chondromodulin-I はメダカ胚発生過程において脊索, 耳胞, 頭蓋軟骨原基で発現する. 第 51 回マトリックス研究会(2004.4.9-10. 京都)

近藤俊哉, 宿南知佐, 開祐司, 高橋智聡, 野田亮: 軟骨分化における RECK および MMP の機能. 第 51 回マトリックス研究会(2004.4.9-10. 京都)

安楽喜久, 水田博志, 工藤智志, 高木克公, 開祐司: 関節軟骨全層欠損再生過程における骨髄間葉系細胞の形質変化. 第 2 回幹細胞シンポジウム(2004.4.26-27. 東京)

角花美和, 滝本品, 三浦重徳, 開祐司, 宿南知佐: Tenomodulin の腱・靱帯分化特異的発現の制御. 第 37 回日本発生物学会大会(2004.6.4-6. 名古屋)

西崎有利子, 宿南知佐, 開祐司: 血管新生抑制因子 Chondromodulin-I は, メダカ胚の後脳, 耳胞, 脊索, 頭蓋軟骨原基に発現する. 第 37 回日本発生物学会大会(2004.6.4-6. 名古屋)

三浦重徳, 西崎有利子, 開祐司, 宿南知佐: 間葉系由来血管新生抑制因子 ChM-I と TeM の局在によって特徴づけられる血管侵入障壁. 第 37 回日本発生物学会大会(2004.6.4-6. 名古屋)

Nishizaki, Y., Shukunami, C., Ito, R., Hiraki, Y. : Expression of Medaka Chondromodulin-1 in the avascular region of the otic vesicle during inner ear development. 13th Conference of the International Society of Differentiation (2004.7.5-9. Honolulu)

Ishii, I., Mizuta, H., Kudo, S., Takagi, K., Hiraki, Y. : Regulation of full-thickness defects of articular cartilage in rabbits

using FGF-2 and fibrin sealant. 5th Combined Meeting of the Orthopaedic Research Societies of the USA, Canada, Japan, and Europe (2004.10.10-13. Banff, Canada)

石井一誠, 水田博志, 工藤智志, 高木克公, 開祐司: FGF-2 含有フィブリン製剤による関節軟骨再生. 「第 19 回日本整形外科学会基礎学術集会」(演題応募中)(2004.10.21-22. 東京)

Miura, S., Shukunami, C., Hiraki, Y.: Decidual ChM-I expression during the maternal blood vessel invasion and decidualization. The 1st Annual Meeting of the Japanese Vascular Biology and Medicine Organization(第 1 回日本血管生物医学会)& Korea-Japan Joint Symposium on Vascular Biology 2004 (2004.11.4-6. Awaji island)

Takimoto, A., Kakuhana, M., Hiraki, Y., Shibuya, M., Shukunami, C.: Impaired cartilage formation by expansion of an avascular region during vascular regression and chondrogenesis. The 1st Annual Meeting of the Japanese Vascular Biology and Medicine Organization(第 1 回日本血管生物医学会)& Korea-Japan Joint Symposium on Vascular Biology 2004 (2004.11.4-6. Awaji island)

Shukunami, C., Miura, S., Ito, R., Nishizaki, Y., Hiraki, Y.: Chondromodulin-I and Tenomodulin Are Anti-Angiogenic Factors that Are Differentially Expressed in the Avascular Mesenchyme During Mouse Embryonic Development. Second National Meeting of the American Society for Matrix Biology (2004.11.10-13. San Diego)

Kondo, S., Shukunami, C., Hiraki, Y., Takahashi, C., Noda, M.: Regulated Expression of RECK and Matrix Metalloproteinases Is Important for Chondrogenesis. Second National Meeting of the American Society for Matrix Biology (2004.11.10-13. San Diego)

古山明子, 西崎有利子, 野津裕之, 宿南知佐, 開祐司, 森肇: 増殖因子の固相化: 多角体固定化 FGF2 による NIH 3T3 細胞の増殖促進活性. 平成16年度日本蚕糸学会関西支部・日本蚕糸学会九州支部合同研究発表会 (2004.11.25-6. 福岡)

角花美和, 滝本晶, 開祐司, 宿南知佐: 腱細胞分化マーカー Tenomodulin の Scleraxis による発現制御. 第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12.8-11. 神戸)

滝本晶, 角花美和, 開祐司, 渋谷正史, 宿南知佐: ニワトリ胚肢芽における sFlt-1 強制発現による血管形成阻害とその骨格への影響. 第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12-8-11. 神戸)

古山明子, 宿南知佐, 森肇, 開祐司: 増殖因子の固相化: 多角体固定化 FGF2 による NIH 3T3 細胞の増殖促進活性. 第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12.8-11. 神戸)

## 2) 講演・シンポジウム

開祐司: 血管新生の制御と骨・軟骨代謝. 第 3 回リウマチ性疾患と骨粗鬆症治療研究会特別講演(2004.5.7. 熊本)

Hiraki, Y.: Hypovascular tissue-specific angiogenesis inhibitors: chondromodulin-I and tenomodulin. JSPS Research for the Future Program Symposium "Biology of neo-angiogenesis"(2004.8.26. Kobe)

水田博志, 工藤智志, 開祐司: 成長因子による軟骨修復. 日本整形外科学会基礎集会パネルディスカッション 4「関節軟骨修復」(2004.10.21-22. 東京)

開祐司: 間葉系組織の血管化制御. 第 7 回 Cardiovascular Research Forum 特別講演 2(2004.12.12. 大阪)



## 生体材料学分野 Department of Biomaterials

分野主任 教授 田畑 泰彦

*Prof. Yasuhiko Tabata*

### 【研究概要】

現在の研究テーマについて以下に概説する。

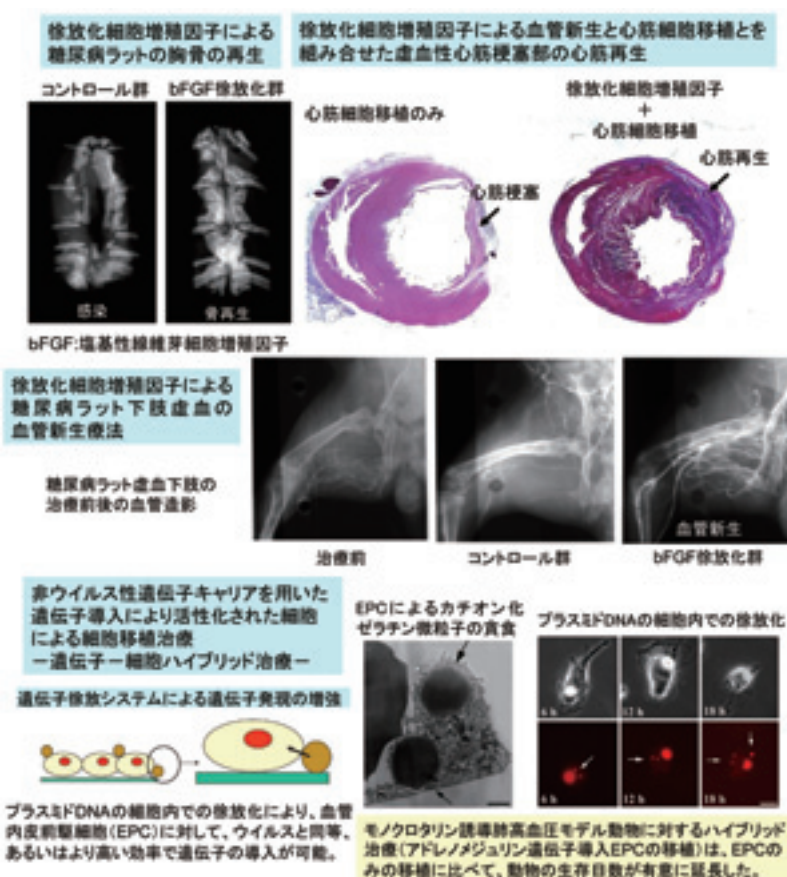
本研究分野の目的は、医療に応用可能あるいは基礎生物医学研究に役立つ方法、手段、および技術を材料科学の立場に立って研究開発していくことである。生体材料とは、体の中で使用したり、あるいはタンパク質、細胞などの生体成分と直接に接触する状況で用いられる材料のことであり、本研究分野においては、高分子、金属、セラミックス、およびそれらのコンポジットからなる生体材料のデザインと創製を行い、得られた生体材料の医療、生物医学への応用を目指している。具体的には、生体組織・臓器の再生誘導治療(再生医療)および再建外科治療のための生体材料、あるいは薬物・遺伝子治療、予防ワクチン、および診断効率の向上を目指したドラッグデリバリーシステム(DDS)のための生体材料の研究開発を行っている。加えて、幹細胞の分子生物学、細胞生物学研究、および細胞培養のために必要不可欠な生体材料についての研究開発も進めている。

再建外科治療をアシストする生体材料の生体適合性はまだまだ低く、その代行できる機能も単一であることから、患者に高い **Quality of Life(QOL)** を与えることが困難である場合が多い。また、臓器移植もドナー不足に加えて、免疫拒絶抑制剤の副作用にともなう問題もある。このように、再建外科と臓器移植との現在の2大先端外科治療に限界が見えてきている状況の中で生まれてきたのが、細胞を活用、生体本来のもつ生体組織の再生誘導能力を基盤として病気を治療しようという試みである。この試みが医療応用できるようになれば、再建外科と臓器移植治療に続く第3の治療法となることは疑いない。この再生医療は生体材料に依存しない点、免疫抑制剤を必要としない点で前2者とは大きく異なる。再生医療の目的は、細胞を利用した生体組織の再生と臓器機能の代替による病気の治療である。この実現には、再生現象にかかわる増殖・分化ポテンシャルの高い幹細胞の生物医学研究が必要であることはいうまでもないが、それに加えて、細胞に生体組織の再生を誘導する環境(場)を与えることが不可欠である。この生体組織の再生誘導の場を構築するための医工学的な技術・方法論が生体組織工学(Tissue Engineering)である。生体組織工学の基本アイデアは、生体組織の構成成分である細胞、細胞の増殖・分化のための足場、および細胞増殖因子をうまく組み合わせることで、生体組織の再生誘導を行うことである。このためには生体材料の利用が必要不可欠であり、特に、生体内で分解吸収され消失する材料(生体吸収性材料)と3つの要素とを組み合わせ、生体組織の再生を誘導する。金属、セラミックスにこの生体吸収性をもたせることは難しく、この観点から、生体組織工学では主として高分子材料が利用されている。生体吸収性材料の利点は、材料の生体内での役割が果たされた後にその場から消失するため、再び取り出す必要がなく、また、材料の存在が生体組織・臓器の再生を妨げないことである。生体材料が生体組織の再生修復とともに吸収されれば、材料に対する問題となる生体反応の心配もなく、また、細胞を患者自身から採取することができれば、免疫拒絶反応もなく、理想的な治療法となる。DDS(ドラッグデリバリーシステム、薬物送達法)および生物医学研究のための材料にも生体吸収性が要求される場合が多い。

本研究分野では、生体吸収性の高分子材料を中心とした生体組織・臓器の再生誘導療法(再生医療)のための生体材料、薬物、遺伝子治療、予防、診断、などに必要な DDS のための生体材料、分子生物学、細胞培養、幹細胞研究のための生体材料、あるいは外科および内科治療補助のための生体材料の研究を行っている。以下にその内容をより詳しく述べる。

### 1) 生体組織の再生誘導治療のための生体材料

血液細胞以外のほとんどの細胞は、生体内では細胞外マトリックスと呼ばれる増殖・分化のための足場材料に接着して存在している。生体組織が大きく欠損した場合には、この足場も失われるため、欠損部に細胞のみを補うだけでは組織の再生は望めない場合が多い。そこで、再生を期待する部位に細胞の増殖・分化のための仮の足場を供給する必要がある。本研究分野では、この細胞の足場としての 3 次元あるいは多孔質構造をもつ生体吸収性の成形体(人工細胞外マトリックス)をデザイン、創製している。しかしながら、いかに足場が優れていても、細胞の数が少なかったり、細胞を増殖させるための生体シグナル物質が足りなければ、生体組織の再生誘導は望めないであろう。このような場合、細胞の増殖・分化を促す細胞増殖因子あるいはその関連遺伝子を用いるのが 1 つの現実的な解決法である。しかしながら、これらの生体因子は生体内での寿命が短く不安定であるため、その利用には投与上の工夫が必要である。この工夫が DDS である。たとえば、生体吸収性材料に細胞増殖因子あるいはその関連遺伝子を包含させ、再生部位で徐々に放出(徐放)すれば、これによって種々の生体組織・臓器の再生が促進されることがわかっている。現在、細胞増殖因子の徐放化による血管、骨の再生誘導治療の臨床試験が始まっている。本研究分野では、この徐放化担体のための生体材料をデザイン、創製している。一般に、慢性疾患では病的部位は線維性組織で占められ、臓器機能が不全に陥っていることが多い。そこで、薬物、遺伝子を用いて、線維性組織を消化分解し、周辺正常組織の再生誘導を促すことによって、慢性疾患の治療を行うことができる。本研究分野では病的部





位への薬物・遺伝子のターゲティングおよび局所徐放化による内科的再生誘導治療も行っている。

## 2) 幹細胞工学および基礎生物医学研究のための生体材料

再生医療には、2つの方向性がある。1つは前述の生体組織工学をベースとした生体組織の再生誘導治療である。もう1つが、増殖・分化ポテンシャルの高い細胞を利用した細胞治療である。後者のためには、臨床応用可能な細胞を調製することが重要となる。本研究分野では、この細胞移植治療に不可欠である幹細胞、前駆細胞、および芽細胞などを効率よく得ることを目的として、それらの細胞の単離、増殖、分化のための培養基材および培養技術について研究開発を行っている。従来の細胞培養法に加えて、種々の生体材料からなる培養基材あるいは培養装置(バイオリアクタ)の組み合わせによる細胞培養技術の確立を目指している。これらの一連の研究は、単に再生医療のために利用可能な細胞を得ることを目的としているだけでなく、広く、細胞の増殖・分化、形態形成に関する生物医学の基礎研究にも応用できる生体材料、技術、方法論を提供する。加えて、細胞機能の解析および細胞の遺伝子改変を目的として、遺伝子導入、発現のための非ウィルスキャリアの研究開発も行っている。幹細胞を利用した細胞移植治療では、時として、細胞の再生誘導能力不足が問題となる場合がある。これを解決する1つの方法として、遺伝子導入による幹細胞の活性化(遺伝子による機能改変)が有望である。これまでに、ウィルスベクターを用いた遺伝子導入が行われているが、ウィルスを用いていることから、その臨床応用はきわめて難しい。そこで、非ウィルスキャリアを用いた幹細胞の活性化法の開発が望まれている。1つの方法として、遺伝子を幹細胞内で徐放化する技術を研究開発した。この技術を利用することによって、ウィルスと同程度あるいはそれよりも高いレベルの遺伝子発現が実現できた。さらに、遺伝子により活性化した幹細胞を用いることによって、より高い細胞移植治療効果が認められた。

## 3) DDS のための生体材料

薬物が効くのは、薬物がその作用部位に適切に作用するからである。しかしながら、現実には、薬物は部位選択性がなく、その薬理作用を発現させるために大量投与が行われている。これが薬物の副作用の主な原因である。そこで、薬物を必要な部位へ、必要な濃度で、必要な時期にだけ働かせるための試みが行われている。これが DDS であり、その目的は薬物の徐放化、薬物の長寿命化、薬物の吸収促進、および薬物のターゲティングなどである。いずれの目的にも、薬物を修飾するための生体材料が必要である。本研究分野では、生体材料学の観点からの薬物、遺伝子治療のための DDS 研究を行っている。加えて、全身あるいは局所、粘膜ワクチン、核磁気共鳴イメージング(MRI)、超音波診断などに対しても、その予防ワクチンおよび診断効果を高めるためには DDS 的工夫が不可欠であり、予防および診断医学に対する DDS の研究開発も行っている。また、可溶化、安定化などの DDS 技術、方法論の化粧品、ヘルスケア領域への展開も進めている。

## 4) 外科・内科治療アシストのための生体材料

本研究分野は、高分子材料を医療に応用していくという、本研究所の前身である生体医療工学研究センターの材料科学研究の流れを引いている。その中で、生体内で吸収する性質をもつ高分子材料を中心として、外科・内科治療の補助のための生体材料の研究開発を行っている。

上記の研究内容について、材料科学的な観点から、基礎および応用研究を行っている。得られた研究成果を基に、様々な生体組織、臓器(皮膚、骨、心臓冠動脈、脂肪、軟骨、神経、歯周組織、毛髪、心筋、腎臓など)の再生、あるいは DDS 技術、方法論を用いた薬物治療、予防、診断などについて、医学部、歯学部、獣医学部、企業との共同研究を通じた、応用研究を展開している。加えて、得られた材料や技術の生物医学の基礎研究への応用についても共同研究を通して検討を進めている。

The main objective of our department is to investigate and develop methods, procedures, and technologies which are applicable to basic and clinical medicines as well as basic biology on the basis of material sciences. The materials to use in the body and to contact biological substances, like proteins and cells, are defined as biomaterials. In our department, various types of biodegradable and non-biodegradable biomaterials of polymers metals, ceramics, and their composites, are designed and created aiming at their clinical applications and the scientific development of basic medicine and biology for stem cells. We investigate the biomaterials to assist reconstructive surgery and to apply to drug delivery systems (DDS) for improved therapeutic efficacy. However, it is often difficult for patients to improve their Quality of Life (QOL) only by the reconstructive surgery procedure because the biomaterials used are of poor biocompatibility and functional substitution. For organ transplantation, there are several problems to be resolved, such as the lack of donor organ and the reverse effects of immunosuppressive agents. The two present medicines of up-to-date are clinically limited for medical therapy. Under such circumstance, one therapeutic approach newly emerging is regenerative medicine. The objective is to regenerate injured or lost tissues and to substitute organ functions by making use of cells. The regenerative medicine is quite different from the reconstructive surgery and organ transplantation from the viewpoint of no use of medical devices and no need of immunosuppressive agents, respectively. The basic idea of regenerative medicine is to give cells an environment site suitable to induce the regeneration of tissue and organ. It is tissue engineering that is a biomedical technology or methodology to create the environment of regeneration induction. Generally, there are three factors necessary for tissue engineering, such as cells, the scaffold for cell proliferation and differentiation, and growth factors. For successful regenerative therapy of tissue and organ, it is indispensable to efficiently take advantage of various biomaterials for recombination of all the factors. Especially, biodegradable biomaterials play an important role in this medical applications. Since there are few metals and ceramics with biodegradable nature, polymer materials of biodegradability have been mainly used for this purpose. If a biomaterial is degraded to disappear in the body, it is not necessary to retrieve the material from the body after the action accomplishment. In addition, it is likely that the material degradation of right time does not physically impair tissue regeneration. Thus, biodegradable of biomaterials are essential to the research and development (R&D) of DDS or basic biology and medicine.

Our research goal is to design and create biomaterials mainly from polymers which are practically applicable for regenerative medicine, stem cell technology, DDS, and medical therapy of reconstructive surgery and internal medicine. More detailed explanation about every project is described.

### 1) Biomaterials for Regenerative Medicine

It is well recognized that cells are present in the living tissue adhering onto the natural scaffold for the proliferation and differentiation of cells or their morphogenesis, namely extracellular matrix (ECM). When the body tissue is largely lost, the ECM itself will also disappear. In such a case, we cannot always expect the tissue regeneration at the large defect only by supplying cells to the defect. One way necessary for successful tissue regeneration is to provide a temporary scaffold for the proliferation and differentiation of cells to the defect. We are designing and creating 3-dimensional and porous constructs of biodegradability as this temporary cell scaffold which is an artificial ECM. However, even if a superior scaffold is supplied to the tissue defect, the tissue regeneration will not be achieved without sufficient number of cells and the amount of cell proliferation signals. It is one of the practically possible ways to use growth factors for promoted proliferation and differentiation of cells. It is, however, necessary for in vivo use of growth factors to contrive their administration form because of the in vivo instability. One possible way is the controlled re-

lease of growth factor or its related gene at the tissue site to be regenerated over an extended time period by incorporating the factor into an appropriate carrier. This release technology will enable the growth factor to efficiently exert the biological activity, resulting in promoted tissue regeneration. We are designing and preparing the release carrier from biodegradable biomaterials. Generally, in the chronic fibrotic disease, the damaged portion of organ is often occupied with the fibrous tissue, which causes organ dysfunction. It is highly possible that if the fibrosis is enzymatically digested by a proper way, the fibrotic site is naturally regenerated based on the inherent regenerative potential of the surrounding normal tissue and consequently the organ function is recovered. We are designing and preparing a system of drug targeting and the local release with polymers of an organ affinity to achieve the regeneration-induced therapy for chronic disease based on the natural regeneration potential of patients (physical regenerative medicine).

## **2) Biomaterials for Stem Cells Technology and Basic Researches of Medicine and Biology**

In addition to one approach of regeneration medicine based on tissue engineering, the other is cell therapy to induce tissue regeneration. For the latter approach, it is of prime importance to obtain cells with a high potential of proliferation and differentiation, such as stem cells, precursors, and blastic cells. In this department, the technology and methodology of cell culture with various biomaterials have been explored to efficiently isolate, proliferate, and differentiate stem cells, precursors, and blastic cells. A series of this study not only aims at the preparation of cells suitable for regenerative medicine, but also research and development (R&D) of materials, technologies, and methodologies for basic medicine and biology. In addition, non-viral for vectors for plasmid DNA and siRNA have been investigated to design the DDS system of gene transfection which can biologically analyze the functions of stem cells and genetically engineer cells for biological activation. For example, we have developed a new system for the controlled release of plasmid DNA inside cells and succeeded in enhancing the level of gene transfection and the consequent gene expression as high as or higher than that of viral vector system.

## **3) Biomaterials for DDS**

Generally there are few drugs which have a specific selectivity for the site of action. Therefore, the high-dose administration of drugs is necessary to achieve their in vivo therapeutic efficacy, while this often causes the adverse effects of drugs. DDS is a trial which allows a drug to act at the right time the right site of action at the necessary concentration. The objective of DDS includes the controlled release of drug, the prolongation of drug life-time, the acceleration of drug absorption, and the drug targeting. Various biomaterials are inevitably required to achieve every DDS objective. In this department, various research projects of DDS for drug and gene therapies are carried out from the viewpoint of polymer material science. The DDS technology and methodology are also needed to enhance the in vivo efficacy of vaccination or magnetic resonance imaging (MRI) and ultrasound diagnosis. We are proceeding DDS technology of methodology which are applicable to the research and development of cosmetics and health care sciences.

## **4) Biomaterials for Surgical and Physical Therapies**

This department is partly originated from the division of Molecular Design and Biomaterials of the former Research Center for Biomedical Engineering where the medical applications of polymer materials have been investigated extensively. Among the research activities, we continue to molecularly design and create biomaterials mainly from biodegradable polymers aiming at their assistance in surgical and physical therapies.

From the viewpoint of biomaterial sciences, we are pursuing comprehensive researches on the scaffold for the cell proliferation and differentiation, the DDS of growth factors and the related genes, and the material-based technology or

methodology to use stem, precursor, and blast cells. Through several R&D collaborations with medical, dental, and veterinary schools as well as private companies, we are planning to apply our basic research results to realize the regeneration induction of various tissues and organs, such as the skin, fat, bone, cartilage, nerve, hair, blood vessels, periodontium, myocardium, and kidney as well as the DDS technologies for therapeutic, prophylactic, and diagnostic medicines, while some biomaterials are applicable for basic of medicine and biology as the research tools.

## 【業績目録】

### ◆ 誌上発表 ◆

#### 1) 原著論文

- 田畑泰彦, 山本雅哉, 中野貴由, 馬越佑吉: 細胞増殖因子の徐放による骨再生と結晶学的アプローチによる評価. 日本結晶成長学会誌. **31(2)**: 59-68(2004)
- Hosseinkhani, H., Tabata, Y.: PEGylation enhances tumor targeting of plasmid DNA by an artificial cationized protein with repeated RGD sequences, *Pronectin. J. Control. Release.* **97(1)**: 157-71 (2004)
- Hosseinkhani, H., Azzam, T., Tabata, Y., Domb, A.J.: Dextran-spermine polycation: an efficient nonviral vector for in vitro and in vivo gene transfection. *Gene Ther.* **11(2)**: 194-203 (2004)
- Hokugo, A., Kubo, Y., Takahashi, Y., Fukuda, A., Horiuchi, K., Mushimoto, K., Morita, S., Tabata, Y.: Prefabrication of vascularized bone graft using guided bone regeneration. *Tissue Eng.* **10(7-8)**: 978-86 (2004)
- Kushibiki, T., Matsumoto, K., Nakamura, T., Tabata, Y.: Suppression of the progress of disseminated pancreatic cancer cells by NK4 plasmid DNA released from cationized gelatin microspheres. *Pharm. Res.* **21(7)**: 1109-18 (2004)
- Kushibiki, T., Matsumoto, K., Nakamura, T., Tabata, Y.: Suppression of tumor metastasis by NK4 plasmid DNA released from cationized gelatin. *Gene Ther.* **11(15)**: 1205-14 (2004)
- Kushibiki, T., Matsuoka, H., Tabata, Y.: Synthesis and physical characterization of poly(ethylene glycol)-gelatin conjugates. *Biomacromolecules.* **5(1)**: 202-8 (2004)
- Kushibiki, T., Tabata, Y.: A new gene delivery system based on controlled release technology. *Curr. Drug Deliv.* **1(2)**: 153-163 (2004)
- 櫛引俊宏, 友重龍治, 田畑泰彦: 生体吸収性カチオン化ゼラチンハイドロゲルを用いたプラスミド DNA の徐放化とその生物活性の増強—NK4 プラスミド DNA の腫瘍転移抑制効果を例として—. 「炎症・再生」**24(6)**: 634-641(2004)
- 櫛引俊宏, 田畑泰彦: RNA 干渉とドラッグデリバリーシステム. 化学. **59(7)**: 72-73(2004)
- Ozeki, M., and Tabata, Y.: In vivo degradability of hydrogels prepared from different gelatins by various crosslinking methods. *J. Biomater. Polym. Edn.* (in press)
- 井上幸子, 安田佳織, 高本智紹, 田畑泰彦: 種々の高分子基材上でのヒト脂肪前駆細胞の増殖と分化. 日本繊維学会研究所講演集. **61**: 61-69(2004)
- Yasuda, K., Inoue, S., Tabata, Y.: Influence of culture method on the proliferation and osteogenic differentiation of human adipo-stromal cells in non-woven fabrics. *Tissue Eng.* **10(9-10)**: 1587-1596 (2004)
- Hori, Y., Inoue, S., Hirano, Y., Tabata, Y.: Effect of culture substrates and fibroblast growth factor addition on the pro-

- liferation and differentiation of rat bone marrow stromal cells. *Tissue Eng.* **10**(7-8) : 995-1005 (2004)
- Kanematsu, A., Marui, A., Yamamoto, S., Ozeki, M., Hirano, Y., Yamamoto, M., Ogawa, O., Komeda, M., Tabata, Y. : Type I collagen can function as a reservoir of basic fibroblast growth factor. *J. Control. Release.* **99**(2) : 281-92 (2004)
- Kanematsu, A., Yamamoto, S., Ozeki, M., Noguchi, T., Kanatani, I., Ogawa, O., Tabata, Y. : Collagenous matrices as release carriers of exogenous growth factors. *Biomaterials.* **25**(18) : 4513-20 (2004)
- Takahashi, Y., Tabata, Y. : Effect of the fiber diameter and porosity of non-woven PET fabrics on the osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **15**(1) : 41-57 (2004)
- 池田 義, 植山浩二, 高 兵, 洞井和彦, 西村和彦, 田畑泰彦, 米田正始 : 微小冠動脈に対する新しい血行再建術 “Bio-CABG”の実験的検討. *Progress in Medicine.* **23**(7) : 1768-1772(2004)
- Tambara, K., Tabata, Y., Komeda, M. : Factors related to the efficacy of skeletal muscle cell transplantation and future approaches with control-released cell growth factors and minimally invasive surgery. *Int. J. Cardiol.* **95**(1) : S13-5 (2004)
- 丹原圭一, 藤田正俊, 田畑泰彦, 米田正始 : ゼラチン水和ゲルによる徐放化システムを用いた bFGF(塩基性線維芽細胞増殖因子)の今後の展望—動物実験から臨床応用へ—. *Cardiovascular Med-Surg.* **6**(3) : 351-357 (2004)
- Nakajima, H., Sakakibara, Y., Tambara, K., Iwakura, A., Doi, K., Marui, A., Ueyama, K., Ikeda, T., Tabata, Y., Komeda, M. : Therapeutic angiogenesis by the controlled release of basic fibroblast growth factor for ischemic limb and heart injury : toward safety and minimal invasiveness. *J. Artif. Organs.* **7**(2) : 58-61 (2004)
- 丸井 晃, 丹原圭一, 田畑泰彦, 米田正始 : 生体吸収性材料(ゼラチンハイドロゲル)による徐放化システムを用いた血管新生. *血管医学.* **5**(6) : (2004)
- Ueyama, K., Bing, G., Tabata, Y., Ozeki, M., Doi, K., Nishimura, K., Suma, H., Komeda, M. : Development of biologic coronary artery bypass grafting in a rabbit model : revival of a classic concept with modern biotechnology. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **127**(6) : 1608-15 (2004)
- Itoh, M., Hiraoka, Y., Kataoka, K., Huh, NH., Tabata, Y., Okochi, H. : Novel collagen sponge reinforced with polyglycolic acid fiber produces robust, normal hair in murine hair reconstitution model. *Tissue Eng.* **10**(5-6) : 818-24 (2004)
- Nishida, T., Kubota, S., Kojima, S., Kuboki, T., Nakao, K., Kushibiki, T., Tabata, Y., Takigawa, M. : Regeneration of defects in articular cartilage in rat knee joints by CCN2 (connective tissue growth factor). *J. Bone Miner. Res.* **19**(8) : 1308-19 (2004)
- Kojima, K., Ignatz, RA., Kushibiki, T., Tinsley, KW., Tabata, Y., Vacanti, CA. : Tissue-engineered trachea from sheep marrow stromal cells with transforming growth factor beta2 released from biodegradable microspheres in a nude rat recipient. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **128**(1) : 147-53 (2004)
- Yasukawa, T., Ogura, Y., Tabata, Y., Kimura, H., Wiedemann, P., Honda, Y. : Drug delivery systems for vitreoretinal diseases. *Prog. Retin. Eye Res.* **23**(3) : 253-81 (2004)
- Nakahara, T., Nakamura, T., Kobayashi, E., Kuremoto, K., Matsuno, T., Tabata, Y., Eto, K., Shimizu, Y. : In situ tissue engineering of periodontal tissues by seeding with periodontal ligament-derived cells. *Tissue Eng.* **10**(3-4) : 537-44 (2004)
- 中原 貴, 中村達雄, 小林英三郎, 井上祐利, 茂野啓示, 田畑泰彦, 江藤一洋, 清水慶彦 : In situ ティッシュ・エ

- ンジニアリングによる歯周組織再生アプローチ—サンドイッチメンブレンによる塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) の徐放効果—。歯学臨床研究。 **1(2)** : 68-77 (2004)
- Nakajima-Nagata, N., Sakurai, T., Mitaka, T., Katakai, T., Yamato, E., Miyazaki, J., Tabata, Y., Sugai, M., Shimizu, A. : In vitro induction of adult hepatic progenitor cells into insulin-producing cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **318(3)** : 625-30 (2004)
- Nakajima-Nagata, N., Sugai, M., Sakurai, T., Miyazaki, J., Tabata, Y., Shimizu, A. : Pdx-1 enables insulin secretion by regulating synaptotagmin 1 gene expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **318(3)** : 631-5 (2004)
- Sakurai, T., Satake, A., Sumi, S., Inoue, K., Nagata, N., Tabata, Y., Miyakoshi, J. : The efficient prevascularization induced by fibroblast growth factor 2 with a collagen-coated device improves the cell survival of a bioartificial pancreas. *Pancreas.* **28(3)** : e70-9. (2004)
- 稲田 聡, 藤原 斉, 窪田 健, 高嶋一博, 阿辻清人, 吉村 衛, 友重龍治, 田畑泰彦, 上田祐二, 山岸久一 : 生分解性カチオン化ゼラチンを用いたヒト樹状細胞への遺伝子導入。癌と化学療法。 **31(11)** : 1786-1787 (2004)
- 中野貴由, 石本卓也, 李 志旭, 馬越佑吉, 山本雅哉, 田畑泰彦, 小林章郎, 岩城啓好, 高岡邦夫, 山本敏男 : 骨の力学機能とミネラルの配向。バイオレオロジー学会誌。 **18(3)** : 21-31 (2004)
- Lee, JW., Nakano, T., Kobayashi, A., Takaoka, K., Tabata, Y., Umakoshi, Y. : Analysis of preferential alignment of biological apatite crystallites in subchondral bone of the osteoarthritic knee. *Phosphorus Research Bulletin.* **17** : 83-84 (2004)
- Ishimoto, T., Nakano, T., Umakoshi, Y., Yamamoto, M., Tabata, Y. : Effects of applied stress on preferential alignment of biological apatite in rabbit forelimb bones. *Phosphorus Research Bulletin.* **17** : 77-82 (2004)
- 岸上義弘, 田畑泰彦 : 獣医臨床にいかす再生医療。CAP : Companion Animal Practice. **176** : 17-35 (2004)
- 岸上義弘, 田畑泰彦 : 獣医臨床にいかす再生医療。CAP : Companion Animal Practice. **178** : 32-60 (2004)
- Okamoto, T., Yamamoto, Y., Gotoh, M., Huang, CL., Nakamura, T., Shimizu, Y., Tabata, Y., Yokomise, H. : Slow release of bone morphogenetic protein 2 from a gelatin sponge to promote regeneration of tracheal cartilage in a canine model. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **127(2)** : 329-34 (2004)
- Tokunaga, N., Nagaya, N., Shirai, M., Tanaka, E., Ishibashi-Ueda, H., Harada-Shiba, M., Kanda, M., Ito, T., Shimizu, W., Tabata, Y., Uematsu, M., Nishigami, K., Sano, S., Kangawa, K., Mori H. : Adrenomedullin gene transfer induces therapeutic angiogenesis in a rabbit model of chronic hind limb ischemia : benefits of a novel nonviral vector, gelatin. *Circulation.* **109(4)** : 526-31 (2004)
- Holland, TA., Tessmar, JK., Tabata, Y., Mikos, AG. : Transforming growth factor-beta 1 release from oligo(poly(ethylene glycol) fumarate) hydrogels in conditions that model the cartilage wound healing environment. *J. Control. Release.* **94(1)** : 101-14 (2004)
- Hosaka, A., Koyama, H., Kushibiki, T., Tabata, Y., Nishiyama, N., Miyata, T., Shigematsu, H., Takato, T., Nagawa, H. : Gelatin Hydrogel Microspheres Enable Pinpoint Delivery of Basic Fibroblast Growth Factor for the Development of Functional Collateral Vessels. *Circulation.* Epub ahead of print (2004)
- Kim, SW., Ogawa, T., Tabata, Y., Nishimura, I. : Efficacy and cytotoxicity of cationic-agent-mediated nonviral gene transfer into osteoblasts. *J. Biomed. Mater. Res.* **71A(2)** : 308-15 (2004)
- Takita, H., Vehof, JW., Jansen, JA., Yamamoto, M., Tabata, Y., Tamura, M., Kuboki, Y. : Carrier dependent cell differentiation of bone morphogenetic protein-2 induced osteogenesis and chondrogenesis during the early implanta-

tion stage in rats. *J. Biomed. Mater. Res.* **71A**(1) : 181-9(2004)

高松聖仁, 中塚洋直, 今井祐記, 越宗 勝, 金城養典, 榎本 誠, 高岡邦夫, 田畑泰彦, 山本雅哉, 筏 義人: 生体吸収性ポリマーチューブによる bFGF Drug Delivery System の末梢神経再生への応用. 移植. **39**(3) : 353 (2004)

田村悦代, 福田宏之, 多田隈卓史, 田畑泰彦: 声帯内脂肪注入術における塩基性線維芽細胞成長因子を用いた脂肪再生の試み. 日本気管食道科学会会報. **55**(6) : 433-438(2004)

Taira, M., Furuuchi, H., Saitoh, S., Sugiyama, Y., Sekiyama, S., Araki, Y., and Tabata, Y. : Bio-sorption of acidic gelatin hydro-gels implanted in the back tissues of Fisher's rats. *J. Oral Rehabilitation*, (in press)

## 2) 総 説

Tabata, Y. : Tissue regeneration based on tissue engineering technology. *Congenital Anomalities*. **44**(3) : 111-24 (2004)

田畑泰彦: 新しい治療法の確立としての再生医療. 月刊新医療 1 月号: 119-123(2004)

田畑泰彦: 再生医療 注目の技術—その現状と可能性を探る—. 会誌「8020」: 342-47(2004)

田畑泰彦: 生体材料, 生体組織工学を基盤とした再生医療の最前線. 日本歯科評論. **64**(2) : 167-181(2004)

田畑泰彦: 高度医療技術の進展に可能性を拓くバイオマテリアル—生体吸収・非吸収材料を用いた生体組織の再生誘導を必要とする材料の加工・修飾技術—. *WEB Journal*. **58** : 25-29(2004)

田畑泰彦: 再生医療の実現に不可欠な生体材料. *Companion Animal Practice*. **176** : 28-35(2004)

田畑泰彦: 再生医療におけるドラッグデリバリーシステムの重要性. *Companion Animal Practice*. **178** : 46-60(2004)

田畑泰彦: 再生医療の実際と将来への期待. *Biotherapy*. **18**(2) : 91-105(2004)

田畑泰彦: ゼラチンハイドロゲルによる生理活性物質の局所徐放治療. *BIO Clinica*. **19**(9) : 74-80(2004)

田畑泰彦: bFGF と創薬. *Bio ベンチャー*. **4**(3) : 14-19(2004)

田畑泰彦: 生体組織工学がもたらす再生医療の動向. *OHM*. **6** : 12-13(2004)

田畑泰彦: 脈管疾患における再生医療のための基盤技術. *J. Jpn. Coll. Angiol.* **44** : 131-138(2004)

田畑泰彦: 再生医療と DDS. 医学のあゆみ. **210**(9) : 759-762(2004)

田畑泰彦: 再生医療に必要な生体組織工学は生体材料学の発展型である. *J. Dental Eng.* **150** : 27-30(2004)

田畑泰彦: 生体組織工学をベースとした生体組織再生治療. 循環器専門医誌. **12**(2) : 213-218(2004)

田畑泰彦: 再生医療—その発展の歴史と先端医療としての位置付け—. 治療学. **38**(19) : (2004)

田畑泰彦: 生体吸収性高分子を用いた生体組織の再生治療. 高分子加工. **53**(12) : 3-11(2004)

## 3) 著 書

田畑泰彦: 再生医療における DDS. 「ドラッグデリバリーシステムの新展開—究極の薬物治療をめざして—」(永井 恒司, 株式会社シーエムシー出版, 東京)323-338(2004)

田畑泰彦: 再生医療へのブレイクスルー. 「遺伝子医学 MOOK 1 再生医療へのブレイクスルー」(田畑泰彦, 株式会社メディカルドウ, 大阪)21-24(2004)

Tabata, Y. : Nanomaterials of drug delivery systems for tissue regeneration *Methods of Molecular Biology, Protein Nanotechnology, Protocols, Instrumentation, and Applications*, (T Vo-Dinh, Humana Press Inc., Totowa, NJ) **300** : 81-100 (2004)

- 山本雅哉, 田畑泰彦: 慢性疾患治療. 「遺伝子医学 MOOK 1 再生医療へのブレイクスルー」(田畑泰彦, 株式会社メディカルドゥ, 大阪)266-272(2004)
- 櫛引俊宏, 田畑泰彦: 遺伝子発現を高めるための遺伝子デリバリー技術. 「遺伝子医学 MOOK1 再生医療へのブレイクスルー」(田畑泰彦, 株式会社メディカルドゥ, 大阪)186-193 (2004)
- 木村 祐, 田畑泰彦: 生理活性分子放出マトリックスの創製と細胞工学への応用. 「ナノバイオエンジニアリングマテリアル」(石原一彦, 株式会社フロンティア出版, 東京)343-350(2004)
- 木村 祐, 田畑泰彦: 機能化足場材料創製への展望. 「遺伝子医学 MOOK 1 再生医療へのブレイクスルー」(田畑泰彦, 株式会社メディカルドゥ, 大阪)145-150(2004)
- 高橋謙治, 井上敦夫, 田畑泰彦, 久保俊一: 細胞増殖因子による変形性関節症治療. 「遺伝子医学 MOOK 1 再生医療へのブレイクスルー」(田畑泰彦, 株式会社メディカルドゥ, 大阪)(2004)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

- Yamamoto, M., Jo, J., Matsumoto, K., Nakamura, T., and Tabata, Y.: Liver targeting of plasmid DNA with a cationized pullulan for tumor suppression. 7th World Biomaterials Congress (2004.5.17-21. Sydney)
- 山本雅哉, 高橋佳丈, 田畑泰彦: ゼラチン-リン酸三カルシウム複合スポンジからの骨形成因子の徐放化とその異所性骨形成. 第7回日本組織工学会(2004.7.1-2. 東京)
- 山本雅哉, 中野貴由, 石本卓也, 高橋佳丈, 馬越佑吉, 田畑泰彦: 徐放化骨形成因子による長管骨欠損部の再生プロセスの結晶工学的解析. 第25回日本炎症・再生医学会(2004.7.13-14. 東京)
- 山本雅哉, 猪飼智範, 城潤一郎, 平野義明, 田畑泰彦: プルランを用いた肝臓への遺伝子ターゲティングにおけるカチオン化度の影響. 第20回日本 DDS 学会学術集会(2004.7.15-16. 東京)
- Yamamoto, M., Takahashi, Y., and Tabata, Y.: Bone induction by controlled release of BMP-2 from a biodegradable hydrogel in various animal species -From mouse to non-human primate-. The 6th Asian Symposium on Biomedical Materials (2004.7.19-22. Emei)
- 山本雅哉, 城潤一郎, 猪飼智範, 岡崎有道, 平野義明, 田畑泰彦: カチオン化プルラン誘導体を用いた in vitro および in vivo 遺伝子導入. 第53回高分子討論会(2004.9.15-17. 札幌)
- 山本雅哉, 高橋佳丈, 北郷明成, 田畑泰彦: 骨形成因子を含浸したリン酸三カルシウム微粒子含有ゼラチンスポンジの骨形成誘導能. 第13回硬組織再生生物学会学術大会・総会(2004.10.23. 小倉)
- Yamamoto, M., Takahashi, Y., Hokugo, A., and Tabata, Y.: Enhanced osteoinduction activity of biodegradable cell scaffold by controlled release of bone morphogenetic protein. The joint meeting of the Tissue Engineering Society International and European Tissue Engineering Society (2004.10.10-13. Lausanne)
- 山本雅哉, 高橋佳丈, 北郷明成, 田畑泰彦: 徐放化骨形成因子を組み込んだ骨形成誘導能をもつ3次元足場材料の開発. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2004(2004.11.15-16. つくば)
- Yamamoto, M., Takahashi, Y., Hokugo, A., and Tabata, Y.: Design of an osteoinductive cell scaffold based on controlled release technology of bone morphogenetic protein. 4th Asian International Symposium on Biomaterials (AISB4) and 2nd International Symposium on Fusion of Nano and Bio Technologies (FNB) (2004.11.16-18. Tsukuba)



- Hosseinkhani, H. and Tabata, Y. : PEGylation enhances tumor targeting of plasmid DNA by an artificial protein with repeated RGD sequences, Pronectin, cationized. 7th world biomaterials congress (2004.5.17-21. Sydney)
- Hosseinkhani, H., Aoyama, T., Ogawa, O., and Tabata, Y. : Tumor targeting of plasmid DNA by dextran conjugation based on metal coordination. The 6th Asian Symposium on Biomedical Materials (2004.7.19-22. Emei)
- Hosseinkhani, H. and Tabata, Y. : Tumor targeting of plasmid DNA by spermine derivative of dextran combined with ultrasound. 第 53 回高分子討論会(2004.9.15-17. 札幌)
- Hosseinkhani, H. and Tabata, Y. : Perfusion culture combined with plasmid DNA impregnated scaffold enhances gene expression of mesenchymal stem cells. The joint meeting of the Tissue Engineering Society International and European Tissue Engineering Society (2004.10.10-13. Lausanne)
- 北郷明成, 川上 理, 虫本浩三, 森田章介, 田畑泰彦 : 生体吸収性ハイドロゲルを用いた多血小板血漿(PRP)の骨再生能の増強. 第 7 回日本組織工学会(2004.7.1-2. 東京)
- 北郷明成, 虫本浩三, 森田章介, 田畑泰彦 : 生体材料と自家組織を用いた二次的血管柄付き移植骨片の作製. 第 25 回日本炎症・再生医学会(2004.7.13-14. 東京)
- 北郷明成, 川上 理, 虫本浩三, 森田章介, 田畑泰彦 : ゼラチンハイドロゲルによる多血小板血漿(PRP)の徐放化. 第 20 回日本 DDS 学会学術集会(2004.7.15-16. 東京)
- Hokugo, A., Mushimoto, K., Morita, S., and Tabata Y. : Prefabricated vascularized bone graft using autologous tissue, biomaterials, and growth factor : A new technique for bone reconstruction. 6th Asian Symposium on Biomedical Materials (2004.7.19-22. Emei)
- Hokugo, A., Sugimoto, K., Fukuda, A., Sawada, Y., Mushimoto, K., Morita, S., and Tabata Y. : A new preparation of prefabricated vascularized bone graft combined with biomaterials and growth factor release. Joint Meeting of the Tissue Engineering Society International and the European Tissue Engineering Society (2004 10.10-13. Lausanne)
- Hokugo, A., Sugimoto, K., Fukuda, A., Sawada, Y., Mushimoto, K., Morita, S., and Tabata Y. : Augmented bone regeneration activity of Platelet-rich plasma by biodegradable hydrogel. 6th Asian Congress on Oral and Maxillofacial Surgery and 49th Annual Meeting of Japanese Society of Oral and Maxillofacial Surgeons (2004 10.20-23. Chiba)
- 北郷明成, 川上 理, 虫本浩三, 森田章介, 田畑泰彦 : ゼラチンハイドロゲルによる血小板内細胞増殖因子の徐放化と骨再生. 第 13 回硬組織再生生物学会学術大会・総会(2004.10.23. 北九州)
- 櫛引俊宏, 田畑泰彦 : NK4 plasmid DNA の生体吸収性ハイドロゲルからの徐放とその腫瘍転移抑制効果ー遺伝子治療を目指した遺伝子デリバリー技術ー. 第 2 回 NK4 遺伝子治療研究会(2004.3.25-26. 大津)
- 櫛引俊宏, 中島奈津紀, 菅井 学, 清水 章, 田畑泰彦 : カチオン化ゼラチンを利用した siRNA 発現ベクターによる腎線維化進展抑制. 第 20 回日本 DDS 学会学術集会(2004.7.15-16. 京都)
- Kushibiki, T., Matsumoto, K., Nakamura, T., Tabata, Y. : Controlled release technology suppresses the progression of disseminated pancreatic cancer cells. The 6th Asian Symposium on Biomedical Materials. (2004.7.19-22. Emei)
- 櫛引俊宏, 藤川智行, 平野義明, 田畑泰彦 : ポリ乳酸グラフトゼラチンを用いた難水溶性薬物の可溶化とその生物活性の増強. 第 53 回高分子討論会(2004.9.15-16. 札幌)
- Kushibiki, T., Tabata, Y. : Delivery of small interference RNA of transforming growth factor beta I receptor by cation-

- ized gelatin to prevent interstitial renal fibrosis. Joint Meeting of the Tissue Engineering Society International and the European Tissue Engineering Society. (2004. 10.11-13. Lausanne)
- 櫛引俊宏, 中島奈津紀, 菅井 学, 清水 章, 田畑泰彦: カチオン化ゼラチンを用いた siRNA の腎間質へのデリバリー. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2004(2004.11.15-16. つくば)
- Kushibiki, T., Nagata-Nakajima, N., Sugai, M., Shimizu, A., Tabata, Y.: Delivery of small interference RNA of transforming growth factor beta 1 receptor by cationized gelatin. 4th Asian International Symposium on Biomaterials (AISB4) and 2nd International Symposium on Fusion of Nano and Bio Technologies (FNB) (2004.11.16-18. Tsukuba)
- 井上幸子, 田畑泰彦: 異なる官能基をもつ基材上でのヒト脂肪前駆細胞の増殖と分化. 第 53 回高分子年次大会 (2004.5.25-27. 神戸)
- Inoue, S. and Tabata, Y.: Addition effect of fibroblast growth factor on the proliferation and differentiation of human adipogenic precursor cells on different substrates. 7th World Biomaterials Congress (2004.5.17-21. Sydney)
- 井上幸子, 高本智紹, 田畑泰彦: 塩基性線維芽細胞増殖因子とともに培養したヒト脂肪前駆細胞の分化能. 第 7 回日本組織工学会(2004.7.1-2. 東京)
- 井上幸子, 田畑泰彦: ヒト脂肪前駆細胞の増殖と分化に影響を与える塩基性線維芽増殖因子の添加効果. 第 25 回日本炎症・再生医学会(2004.7.13-14. 東京)
- Inoue, S. and Tabata, Y.: Proliferation and differentiation of human stromal cells derived from fat tissue on different culture substrates. 6th Asian Symposium on Biomedical Materials (2004.7.19-22 Emei)
- 井上幸子, 田畑泰彦: ヒト脂肪前駆細胞の増殖, 骨分化に与える bFGF 添加および培養基材の影響. 第 28 回骨カルシウム代謝研究会(2004.9.10. 京都)
- 井上幸子, 田畑泰彦: 末端官能基の異なるアルカンチオール基材上での脂肪前駆細胞の増殖と分化. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2004(2004.11.15-16. つくば)
- Inoue, S. and Tabata, Y.: Proliferation and differentiation of human adipo stromal cells on the surface of self-assembled alkanethiols. 4th Asian International Symposium on Biomaterials (AISB4) and 2nd International Symposium on Fusion of Nano and Bio Technologies (FNB) (2004.11.16-18. Tsukuba)
- 木村 祐, 安田佳織, 高本智紹, 稲本 俊, 田畑泰彦: 異なる分解性をもつ高分子材料を用いた脂肪組織再生. 第 53 回高分子学会年次大会(2004.5.25-27. 神戸)
- 木村 祐, 野一尚子, 稲本 俊, 田畑泰彦: 脂肪組織の再生誘導に与える組織工学材料の生体吸収性の影響. 第 7 回日本組織工学会(2004.7.1-2. 東京)
- 木村 祐, 野一尚子, 稲本 俊, 田畑泰彦: 種々の生体内吸収性足場材料を用いた脂肪組織の再生誘導. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2004(2004.11.15-16. つくば)
- Kimura, Y., Noichi, N., Inamoto, T., and Tabata, Y.: Influence of the cell scaffold property on the de novo adipogenesis. 4th Asian International Symposium on Biomaterials (AISB4) and 2nd International Symposium on Fusion of Nano and Bio Technologies (FNB) (2004.11.16-18. Tsukuba)
- 城潤一郎, 山本雅哉, 松本邦夫, 中村敏一, 田畑泰彦: ポリイオンコンプレックスを用いた NK4 プラスミド DNA の肝臓ターゲティングによる肝臓への腫瘍転移抑制効果の増強. 日本薬学会第 124 年会(2004.3.29-31. 大阪)
- 城潤一郎, 山本雅哉, 松本邦夫, 中村敏一, 田畑泰彦: 異なる分子量のカチオン化プルランを用いたプラスミド DNA

- の肝臓ターゲティング. 第 53 回高分子学会年次大会(2004.5.25-27. 神戸)
- 城潤一郎, 山本雅哉, 田畑泰彦: カチオン化多糖誘導体を用いた細胞への *in vitro* 遺伝子導入. 第 20 回日本 DDS 学会学術集会(2004.7.15-16. 東京)
- 城潤一郎, 山本雅哉, 岡崎有道, 田畑泰彦: カチオン化多糖誘導体による組織幹細胞の *in vitro* 遺伝子発現. 日本 バイオマテリアル学会シンポジウム 2004(2004.11.15-16. つくば)
- Jo, J., Yamamoto, M., Okazaki, A., and Tabata, Y.: *In vitro* gene expression of adult stem cells by cationized polysaccharide derivatives. 4th Asian International Symposium on Biomaterials (AISB4) and 2nd International Symposium on Fusion of Nano and Bio Technologies (FNB) (2004.11.16-18. Tsukuba)
- 劉 健, 山本雅哉, 田畑泰彦: 水可溶化したポリエチレングリコール修飾フラーレンの抗がん活性. 第 53 回高分子学会年次大会(2004.5.25-27. 神戸)
- 高本智紹, 安田佳織, 辻野友博, 山本雅哉, 金岡鍾局, 青島貞人, 田畑泰彦: 温度感応性ビニルエーテルブロックコポリマー上での細胞の接着と脱着. 第 53 回高分子学会年次大会(2004.5.25-27. 神戸)
- 高本智紹, 平岡陽介, 田畑泰彦: 繊維により力学修飾したコラーゲンスポンジ中での幹細胞の培養. 第 7 回日本組織工学会(2004.7.1-2. 東京)
- 高本智紹, 平岡陽介, 田畑泰彦: 繊維補強されたコラーゲンスポンジ中での骨髄間葉系幹細胞の増殖と分化. 日本 バイオマテリアル学会シンポジウム 2004(2004.11.15-16. つくば)
- Takamoto, T., Hiraoka, Y. and Tabata, Y.: Proliferation and differentiation of mesenchymal stem cells in fiber-reinforced collagen sponges. 4th Asian International Symposium on Biomaterials (AISB4) and 2nd International Symposium on Fusion of Nano and Bio Technologies (FNB) (2004.11.16-18. Tsukuba)
- 谷川麻世, 尾関 真, 田畑泰彦: 異なる架橋密度をもつカチオン化ゼラチンハイドロゲルの生体吸収性. 第 50 回高分子研究発表会(2004.7.15-16. 神戸)
- 猪飼智範, 山本雅哉, 城潤一郎, 平野義明, 田畑泰彦: 異なるカチオン化率をもつプルランを用いた肝臓への遺伝子導入. 第 50 回高分子研究発表会(2004.7.15-16. 神戸)
- Ozeki, M., and Tabata, Y.: Promoted growth of murine hair follicles by controlled release of growth factors from biodegradable hydrogel. 6th Asian Symposium on Biomedical Materials (2004.7.19-22. Emei)
- Takahashi, K., Takamoto, T. and Tabata, Y.: Preparation of gelatin grafted with lactic acid oligomers. 6th Asian Symposium on Biomedical Materials (2004.7.19-22. Emei)
- 安田佳織, 辻野友博, 金岡鍾局, 青島貞人, 田畑泰彦: 温度感応性ビニルエーテルブロックコポリマー上での細胞の接着と脱着. 第 50 回高分子研究発表会(2004.7.15-16. 神戸)
- 高橋佳丈, 山本雅哉, 田畑泰彦: ゼラチン-リン酸三カルシウム複合スポンジ中での骨分化培養. 第 7 回日本組織工学会(2004.7.1-2. 東京)
- 高橋佳丈, 山本雅哉, 田畑泰彦: ゼラチン-リン酸三カルシウム複合スポンジを用いた骨形成. 第 53 回高分子討論会(2004.9.15-17. 札幌)
- Hiraoka, Y., Ueda, H., Kimura, Y., and Tabata, Y.: Fabrication and characterization of mechanically reinforced collagen sponge. The 6th Asian Symposium on Biomedical Materials (2004.7.19-22. Emei)
- 川上 理, 波多野武人, 宮本 享, 山田圭介, 橋本信夫, 田畑泰彦: Fibroblast seeding coil を用いた動脈瘤治療の試み. 第 7 回日本組織工学会(2004.7.1-2. 東京)
- 川上 理, 波多野武人, 宮本 享, 山田圭介, 橋本信夫, 田畑泰彦: Fibroblast seeding coil を用いた動脈瘤治療の

試み. 第 6 回日本脳神経外科学会総会(2004.10.6-8. 名古屋)

Kawakami, O., Hatano, T., Miyamoto, S., Yamada, K., Hashimoto, N., and Tabata, Y: A therapeutic trial of aneurysm by fibroblasts- seeded coils. 4th Asian International Symposium on Biomaterials (AISB4) and 2nd International Symposium on Fusion of Nano and Bio Technologies (FNB) (2004.11.16-18. Tsukuba)

小西光長, 田畑泰彦, 刈谷方俊, 馬場 長, 松村謙臣, 佐藤 寛, 八木治彦, 鈴木彩子, 福原 健, 万代昌紀, 高倉賢二, 藤井信吾: 縫合貼付かつ Dual release が可能な DDS 製剤 CDDP および ADM 包含 gelatin hydrogel の抗腫瘍効果の検討. 第 56 回日本産婦人科学会学術講演会(2004.4.12-15. 東京)

小西光長, 田畑泰彦, 藤井信吾: 生体分解性高分子を用いた抗癌剤内包 DDS (drug delivery system) 製剤の開発. 21 世紀 COE プログラム「病態解明を目指す基礎医学研究拠点(多重遺伝子変異モデルによる病態解明)」平成 16 年度がんコロキウム(2004.7.9-10. 大津)

小西光長, 田畑泰彦, 刈谷方俊, 馬場 長, 松村謙臣, 佐藤 寛, 八木治彦, 鈴木彩子, 福原 健, 万代昌紀, 高倉賢二, 藤井信吾: 縫合貼付かつ Dual release が可能な DDS 製剤 CDDP および ADM 包含 gelatin hydrogel の抗腫瘍効果の検討. 第 36 回日本婦人科腫瘍学会学術集会(2004.7.15-17. 広島)

小西光長, 田畑泰彦, 藤井信吾: 縫合貼付かつ Dual release が可能な DDS 製剤 CDDP および ADM 包含 gelatin hydrogel の抗腫瘍効果の検討. 第 20 回日本 DDS 学会学術集会(2004.7.15-16. 東京)

小西光長, 田畑泰彦, 藤井信吾: 縫合貼付かつ Dual release が可能な CDDP および ADM 包含 gelatin hydrogel の抗腫瘍効果の検討. 第 42 回日本癌治療学会(2004.10.27-29. 京都)

Kariya, M., Tabata, Y., Konishi, M., Suzuki, A., Yagi, H., Fukuhara, K., Takakura, K., Fujii, S.: In vivo anti-tumor effect of dual release of cisplatin and adriamycin from biodegradable gelatin hydrogel. 10th Biennial International Gynecologic Cancer Society Meeting (2004.10.3-7. Edinburgh)

市戸義久, 丸井 晃, 米田正始, 田畑泰彦: 粒子系の異なるゼラチンハイドロゲルを用いた bFGF の in vivo 血管新生効果. 第 7 回日本組織工学会(2004.7.1-2. 東京)

Kanematsu, A., Yamamoto, S., Iwai-Kanai, E., Kanatani, I., Imamura, M., Tabata, Y., Ogawa, O.: Soluble factors from smooth muscle cells induce smooth muscle cell-like phenotype in bone marrow stromal cells. Annual Meeting of American Urological Association (2004.5.8-13. San Francisco)

山本新吾, 兼松明弘, 金谷 勲, 今村正明, 田畑泰彦, 小川 修: 生体吸収性材料を使用した尿道再生および膀胱再生の試み. 第 11 回日本排尿機能学会(2004.10.13-15. 東京)

Tambara, K., Premaratne, GU., Sakakibara, Y., Nakajima, H., Kanemitsu, N., Yamamoto, M., Ozeki, M., Tabata, Y. and Komeda, M.: Control-released hepatocyte growth factor enhances the efficacy of cardiomyocyte transplantation by increasing the survival rate of the donor cells. 7th world biomaterials congress (2004.5.17-21. Sydney)

丸井 晃, 兼松明宏, 廣瀬圭一, 洞井和彦, 新井善雄, 榊原 裕, 池田 義, 田畑泰彦, 米田正始: より一層の安全性, 遠隔成績の向上を目的とした血管新生因子 Dual delivery の可能性. 第 34 回日本心臓血管外科学会学術総会(2004.2.18-20. 福岡)

丸井 晃, 兼松明宏, 廣瀬圭一, 洞井和彦, 新井善雄, 榊原 裕, 池田 義, 田畑泰彦, 米田正始: 生体吸収性材料による塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)および肝細胞増殖因子(HGF)の局所同時徐放(Dual Delivery)による血管新生療法—より一層の安全性, 遠隔成績の向上をめざして—. 第 104 回日本外科学会定期学術集会(2004.4.7-9. 大阪)

Marui, A., Kanematsu, A., Hirose, K., Doi, K., Arai, Y., Ikeda, T., Tabata, Y., Komeda, M.: Dual release of basic fibro-

blast growth factor and hepatocyte growth factor form biodegradable collagen microsphere synergistically enhances therapeutic angiogenesis and promotes vascular maturation in critical limb ischemia. 32th Japanese Society for Vascular Surgery (2004.5.12-14. Tokyo)

Marui, A., Doi, K., Kushibiki, T., Tabata, Y., Komeda, M. : Therapeutic angiogenesis in limb ischemia by controlled release of basic fibroblast growth factor. 7th World Biomaterials Congress (2004.5.17-21. Sydney)

鷹羽浄顕, 根本慎太郎, 丹原圭一, 福岡正平, 田畑泰彦, 池田 義, 米田正始: 重症冠動脈疾患に対する新たな治療戦略としての BioBypass の開発. 第 9 回日本冠動脈外科学会総会(2004.7.7-9. 札幌)

Takaba, K., Nemoto, S., Saji, Y., Jang, C., Tabata, Y., Ikeda, T., Komeda, M. : Development of biologic coronary artery bypass grafting in a chronic ischemic rabbit model. 17th Annual Meeting World Society of Cardio- Thoracic Surgeons (WSCTS) Japan Chapter (2004 .7.16-17. Yokohama)

Hirose, K., Marui, A., Arai, Y., Nomura, T., Ozeki, M., Inoue, S., Yuang, H., Doi, K., Mitsuyama, M., Tabata, Y., Komeda, M. : A New Method of Preventing Catheter-related MRSA Infection by Angiogenesis Effects of Control-released bFGF. AHA (scientific session 2004) (2004.11.7-10. New Orins)

稲田 聡, 藤原 斉, 窪田 健, 高嶋一博, 阿辻清人, 吉村 衛, 友重龍治, 田畑泰彦, 上田祐二, 山岸久一: 生分解性カチオン化ゼラチンを用いたヒト樹状細胞への遺伝子導入. 第 25 回癌免疫外科研究会. 第 26 回日本癌局所療法研究会ジョイントミーティング(2004.5.20-21. 京都)

稲田 聡, 藤原 斉, 窪田 健, 高嶋一博, 阿辻清人, 吉村 衛, 友重龍治, 田畑泰彦, 山岸久一: 樹状細胞を用いた癌免疫療法の効果増強の試みーカチオン化ゼラチンを用いた遺伝子導入ー. 第 59 回日本消化器外科学会総会(2004.7.21-23. 鹿児島)

稲田 聡, 藤原 斉, 窪田 健, 高嶋一博, 阿辻清人, 城潤一郎, 田畑泰彦, 山岸久一: カチオン化多糖類ー遺伝子複合体を用いた癌に対する遺伝子治療. 第 42 回日本癌治療学会総会(2004.10.27-29. 京都)

小玉直樹, 永田昌毅, 尾関 真, 木村 祐, 高木律男, 田畑泰彦: rhFGF2 含浸ゼラチンハイドロゲルによる歯槽骨再生の試み. 第 7 回日本組織工学会大会(2004.7.1-2. 東京)

武本 啓, 森本尚樹, 辻 泰美, 鈴木茂彦, 平 嗣良, 田畑泰彦: 線維芽細胞を播種しない複合型培養皮膚作製. 第 34 回日本創傷治癒学会(2004.11.29-30. 金沢)

森本尚樹, 鈴木茂彦, 辻 泰美, 川添 剛, 武本 啓, 田畑泰彦, 富畑賢司, 平 嗣良, 高橋佳丈, 森川訓行: 表皮, 真皮, 脂肪同時移植の試み. 第 7 回日本組織工学会(2004.7.1-2. 東京)

森本尚樹, 鈴木茂彦, 辻 泰美, 川添 剛, 武本 啓, 田畑泰彦, 富畑賢司, 平 嗣良: 培養皮膚の血管新生. 第 12 回日本形成外科学会基礎学術集会(2004.10.21-22. 千葉)

松浦 稔, 西尾彰功, 仲瀬裕志, 玉置敬之, 井上聡子, 田畑泰彦, 千葉 勉: basic FGF による腸炎改善効果の作用機序に関する基礎的検討. 第 41 回日本消化器免疫学会総会(2004.7.15-16. 大津)

森野茂行, 中村達雄, 鳥羽紀成, 高橋 充, 永安 武, 櫛引俊宏, 田畑泰彦, 吉谷 信, 清水慶彦: 肺気腫ーグロースファクターによる治療. 第 44 回日本呼吸器学会学術講演会(2004.3.31-4.2. 東京)

森野茂行, 中村達雄, 鳥羽紀成, 高橋 充, 永安 武, 東 高志, 堤 定美, 櫛引俊宏, 田畑泰彦, 吉谷 信, 清水慶彦: 徐放性線維芽細胞増殖因子を用いた肺機能再生に関する検討. 第 25 回日本炎症・再生医学会(2004.7.13-14. 東京)

岸上義弘, 田畑泰彦: 獣医師のための再生医療セミナー. 獣医フォーラム京都リージョンセミナー(2004.4.26. 京都)

- 岸上義弘, 田畑泰彦: 獣医師のための再生医療セミナー. 大阪府獣医師会枚方地区研究会(2004.6.20. 大阪)
- 岸上義弘, 田畑泰彦: 犬の骨折癒合不全症に対し線維芽細胞増殖因子(bFGF)とドラッグデリバリーシステム(DDS)を利用した骨再生によって治療した5例. 獣医麻酔外科学会(2004.6.26-27. 東京)
- 岸上義弘, 田畑泰彦: 獣医師のための再生医療セミナー. 栃木県獣医師会(2004.8.1. 栃木)
- 岸上義弘, 田畑泰彦: 骨折癒合不全症に対する組織工学(Tissue Engineering)手法の臨床応用. 麻布獣医学会(2004.8.28. 札幌)
- 岸上義弘, 田畑泰彦: 再生医学の基礎. 日本臨床獣医フォーラム(2004.9.18-20. 東京)
- 岸上義弘, 田畑泰彦: 獣医学領域の再生医療. 神戸市獣医師会(2004.10.3. 神戸)
- 岸上義弘, 田畑泰彦: 犬の骨折癒合不全症に対し線維芽細胞増殖因子(bFGF)とドラッグデリバリーシステム(DDS)を利用した骨再生. 中部小動物臨床研究会(2004.10.10. 名古屋)
- 岸上義弘, 田畑泰彦: 犬の骨折癒合不全症に対し線維芽細胞増殖因子(bFGF)とドラッグデリバリーシステム(DDS)を利用した骨再生. 動物臨床医学会(2004.11.19-21. 大阪)
- 岸上義弘, 田畑泰彦: 獣医学領域の再生医療. 台湾小動物臨床研究会(2004.11.28. 台湾)
- 井上敦夫, 高橋謙治, 寺内 竜, 外村 仁, 田畑泰彦, 櫛引俊宏, 久保俊一: 線維芽細胞増殖因子含浸ゼラチンハイドロゲル粒子の家兎変形性関節症モデルに対する治療効果の検討. 第7回日本組織工学会(2004.7.1-2. 東京)
- 田中基幹, 高田 聡, 富岡厚志, 穴井 智, 松村善昭, 櫛引俊宏, 田畑泰彦, 植村天受, 平尾佳彦: 徐放性 PTEN 遺伝子薬を用いた前立腺癌における放射線感受性増強効果. 第63回日本癌学会(2004.9.29-10.1. 福岡)
- 中野貴由, 石本卓也, 馬越佑吉, 山本雅哉, 田畑泰彦, 高橋佳丈: 骨成長因子徐放による長管骨欠損部での再生プロセスの結晶工学的解析. 第27回骨・カルシウム代謝研究会(2004.2.25. 京都)
- 中野貴由, 石本卓也, 李 志旭, 馬越佑吉, 山本雅哉, 田畑泰彦, 小林章郎, 岩城啓好, 高岡邦夫, 山本敏男: 骨の力学機能とミネラルの配向. 第27回日本バイオレオロジー学会年会(2004.6.10-11. 東京)
- 中野貴由, 馬越佑吉, 田畑泰彦: 骨成長因子の徐放による硬組織再生と結晶工学的アプローチによる評価. 独立行政法人日本学術振興会「結晶成長の科学と技術 第161委員会」第40回研究会(2004.6.25. 名古屋)
- 中野貴由, 石本卓也, 馬越佑吉, 山本雅哉, 高橋佳丈, 田畑泰彦: 長管骨欠損部における再生プロセスの結晶学的評価. 第7回日本組織工学会(2004.7.1-2. 東京)
- 中野貴由, 石本卓也, 李 志旭, 馬越佑吉, 山本雅哉, 田畑泰彦, 小林章郎, 高岡邦夫: 再生・疾患硬組織への結晶学的アプローチ. 第48回日本学術会議材料研究連合講演会 2004(2004.10.24. 東京)
- Nakano, T., Ishimoto, T., Lee, J- W., Umakoshi, Y., Yamamoto, M., Tabata, Y., Kobayashi, A., Iwaki, H., Takaoka, K. and Yamamoto, T.: Crystallographic approach to regenerated and pathological hard tissues. International Symposium on Structural and Functional Materials Design (2004.11.10-12. Osaka)
- 石本卓也, 中野貴由, 馬越佑吉, 山本雅哉, 高橋佳丈, 田畑泰彦: BMP 徐放による長管骨巨大欠損部の再生プロセスの解析. 日本金属学会 2004 年春期(第134回)大会(2004.3.30-4.1. 東京)
- 石本卓也, 中野貴由, 馬越佑吉, 山本雅哉, 高橋佳丈, 田畑泰彦: 硬組織再生過程での組織・機能回復に対する支配因子の解明. 日本金属学会 2004 年秋期(第135回)大会(2004.9.28-30. 秋田)
- Ishimoto, T., Nakano, T., Umakoshi, Y., Yamamoto, M. and Tabata, Y.: Role of stress distribution on healing process of preferential alignment of biological apatite in long bones. International Symposium on Structural and Functional Materials Design (2004.11.10-12. Osaka)

石本卓也, 中野貴由, 馬越佑吉, 山本雅哉, 高橋佳丈, 田畑泰彦: 長管骨再生部における機能回復評価のためのミネラルの量的・質的解析. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2004(2004.11.15-16. つくば)

石本卓也, 中野貴由, 馬越佑吉, 山本雅哉, 田畑泰彦: 再生材料の開発と材料学的評価, H16 年度第 4 回日本金属学会・鉄鋼協会関西支部材料開発研究会 2004(2004.12.13. 大阪)

李 志旭, 土田裕基, 中野貴由, 馬越佑吉, 小林章郎, 高岡邦夫, 田畑泰彦: 変形性膝関節症をはじめとする硬組織疾患における BAp 配向性変化. 日本金属学会 2004 年春期(第 134 回)大会(2004.3.30-4.1. 東京)

李 志旭, 中野貴由, 馬越佑吉, 豊澤 悟, 伊集院直邦, 山本雅哉, 田畑泰彦: 長管骨の BAp 配向性に及ぼす破骨細胞の役割. 日本金属学会 2004 年秋期(第 135 回)大会(2004.9.28-30. 秋田)

Lee, J-W., Nakano, T., Toyosawa, S., Ijuhin, N., Tabata, Y., Yamamoto, M. and Umakoshi, Y.: Role of osteoclast in preferential alignment of biological apatite (BAp) in long bones. International Symposium on Structural and Functional Materials Design (2004.11.10-12. Osaka)

李 志旭, 中野貴由, 馬越佑吉, 小林章郎, 高岡邦夫, 田畑泰彦: アパタイト配向性を指標とした変形性膝関節症の解析. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2004(2004.11.15-16. つくば)

吉田喜人, 中野貴由, 藤谷 渉, 馬越佑吉, 稲継泰之, 田畑泰彦: 自己組織化現象を利用した配向性 Co/Ap 複合材料の開発と石灰化機構の解明. 日本金属学会 2004 年春期(第 134 回)大会(2004.3.30-4.1. 東京)

藤谷 渉, 中野貴由, 馬越佑吉, 田畑泰彦: 一軸配向性アパタイトセラミックスの作製と in vitro 評価. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2004(2004.11.15-16. つくば)

石井克典, 柳瀬 薫, 鈴木-吉橋幸子, 山本雅哉, 千原國宏, 田畑泰彦, 栗津邦男: FT-IR によるリン酸化分析とレーザー脱リン酸化の基礎的検討. 日本光学会年次学術講演会(Optics Japan 2004)(2004.11.4-5. 吹田)

石井克典, 柳瀬 薫, 鈴木-吉橋幸子, 山本雅哉, 千原國宏, 田畑泰彦, 栗津邦男: リン酸化とレーザー脱リン酸化の非侵襲解析とその再生医学への応用. 第 25 回日本レーザー医学会総会シンポジウム「自由電子レーザーによる生命医科学への展開」(2004.11.11-12. 東京)

木下鞠彦, 藤田元規, 神谷正大, 佐藤恵美子, 前田初彦, 亀山洋一郎, 川瀬俊夫, 田畑泰彦: 生体吸収性ポリグリコール酸コラーゲンスポンジにおける骨髄間葉系幹細胞増殖, 分化能. 第 58 日本口腔科学会総会(2004.5.6-8. 横浜)

木下鞠彦, 小園 知, 途々木和男, 福岡真一, 藤田忠寛, 都築英子, 根岸秀幸, 櫛引俊宏, 田畑泰彦: 顎骨の Tissue Engineering-bFGF 含浸ゼラチン粒子と骨髄海綿骨細片を用いた下顎骨再生実験. 第 7 回日本組織工学会(2004.7.1-2. 東京)

Fujita, M., Sato, E., Maeda, H., Kameyama, Y., Hiraoka, Y., Tabata, Y., Ozono, S., Negishi, H., Kawase, T., Kinoshita, Y.: Proliferation and Differentiation of Rat Bone Marrow Stem Cell on PGA-Collagen Sponge. 7th World Biomaterials Congress(2004.5.17-21. Sydney)

Takigawa, M., Nishida, T., Kubota, S., Kojima, S., Kuboki, T., Nakao, K., Fujisawa, T., Kawata, K., Yanagita, T., Kadota, H., Asaumi, K., Kawaki, H., Kushibiki, T. and Tabata, Y.: Third International Workshop on the CCN Family of Genes (2004.10.20-23. Saint-Malo)

Nishida, T., Kubota, S., Kojima, S., Kuboki, T., Nakao, K., Kushibiki, T., Tabata, Y. and Takigawa, M.: Regeneration of defects in articular cartilage in rat knee joints by connective tissue growth factor/ hypertrophic chondrocyte-specific gene product 24/ CCN family protein 2 (CTGF/Hcs24/CCN2). The 26th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research (2004.10.2-5. Seattle)

久保田聡, 西田 崇, 小島俊司, 窪木拓男, 櫛引俊宏, 田畑泰彦, 滝川正春: 結合組織成長因子 CTGF/CCN2 によるラット関節軟骨の再生. 第 3 回日本再生医療学会(2004.3.23-25. 千葉)

安食孝士, 松井圭司, 高橋将文, 佐藤友紀, 木村 敦, 袴田陽二, 村上 孝, 小林英司, 櫛引俊宏, 田畑泰彦: 血管閉塞疾患の治療のキーは再生 VS 炎症?—ラットを用いた新たな In vivo 評価系の確立. 第 25 回日本炎症・再生医学会(2004.7.13-14. 東京)

Morimoto, K., Kanbayashi, H., Chono, S., Seki, T., Tabata, Y.: Aminated gelatin as nasal absorption enhancer for peptide drugs. Pharmaceutical Sciences World Congress (PSWC 2004) (2004.6.1. Kyoto)

Morimoto, K., Chono, S., Seki, T., Tabata, Y.: Design of Novel Injectable Sustained Release Cationized Microspheres Based on Aminate Gelatin for Insulin Delivery: 2004 AAPS Annual Meeting and Exposition (2004.11.10. Baltimore)

丁野純男, 関 俊暢, 田畑泰彦, 森本一洋: アミノ化ゼラチンマイクロスフィアのインスリン放出制御製剤のとしての有用性の評価. 日本薬学会第 124 年会(2004.3.30. 大阪)

丁野純男, 関 俊暢, 田畑泰彦, 森本一洋: アミノ化ゼラチンマイクロスフィアによるインスリン徐放出効果と血糖降下作用の持続化. 第 20 回日本 DDS 学会学術集会(2004.7.15. 東京)

田村悦代, 福田宏之, 楠山敏行, 藤本裕一, 田畑泰彦: 難治性声門閉鎖不全疾患に対する声帯内脂肪注入術. 第 49 回日本音声言語医学会(2004.11.11-12. 東京)

田村悦代, 福田宏之, 多田隈卓史, 楠山敏行, 藤本裕一, 田畑泰彦: 声帯内脂肪注入術における脂肪再生の試み. 第 56 回日本気管食道科学会(2004.11.25-26. 東京)

遠藤 剛, 中川隆之, 喜多知子, 伊藤壽一, 田畑泰彦: 徐放性ジェルによる新しい内耳ドラッグデリバリーシステム第 20 回日本 DDS 学会学術集会(2004.7.15-16. 東京)

村田 勝, 田崎純一, 佐々木智也, 有末 眞, 赤澤敏之, 山本雅哉, 田畑泰彦: 生体模倣傾斜機能アパタイトの吸収特性と BMP-2 徐放. 第 2 回日本再生歯科医学会(2004.9.4. 札幌)

田崎純一, 村田 勝, 吉本良太, 有末 眞, 赤澤敏之, 山本雅哉, 田畑泰彦: 生体模倣傾斜機能アパタイトの BMP-2 徐放特性と減量実験. 第 8 回生体関連セラミックス討論会(2004.12.2-3. 東京)

Shimizu, T., Zhao, Y., Nishihira, J., Honda, A., Watanabe, H., Abe, R., Tabata, Y., Kushibiki, T., Nakayama, T., Taniguchi, M., Shimizu, H.: Tissue regeneration by incorporation of macrophage migration inhibitory factor (MIF)-impregnated gelatin beads into cutaneous wound. 79th Societa Italiana di Dermatologica, Joint Meeting of the JSID and GIRSDE (Italian Group of Experimental Research in Dermatology) (2004.5.26-29. Nova Yardinia)

Zhao, Y., Shimizu, T., Nishihira, J., Honda, A., Watanabe, H., Abe, R., Tabata, Y., Kushibiki, T., Nakayama, T., Taniguchi, M., Shimizu, H.: Impregnated gelatin beads containing MIF accelerates cutaneous wound healing. 8th China-Japan Joint Meeting of Dermatology (2004.11.11-12. Beijing)

小畑陽子, 宮崎正信, 阿部克成, 原田孝司, 山本一男, 友重龍治, 松山俊文, 小路武彦, 田畑泰彦, 河野 茂: マウス腹膜線維症モデルにおける HSP47siRNA を用いた腹膜肥厚抑制効果の検討. 日本腎臓学会学術総会(2004.5.27-29. 栃木)

小畑陽子, 宮崎正信, 阿部克成, 山本一男, 友重龍治, 松山俊文, 小路武彦, 田畑泰彦, 河野 茂: カチオン化ゼラチン粒子を用いた腹膜線維症における遺伝子治療の試み—HSP47 siRNA 投与による検討—. 第 10 回日本腹膜透析研究会(2004.9.18-19. 東京)



- Obata, Y., Miyazaki, M., Abe, K., Yamamoto, K., Kushibiki, T., Tomoshige, R., Matsuyama, T., Koji, T., Tabata, Y., Kohno, S. : Suppression of peritoneal fibrosis by HSP47 siRNA conjugated with cationized gelatin microspheres. The American Society of Nephrology, Renal Week 2004 (2004.10.27-11.1. St.Louis)
- Xia, Z., Miyazaki, M., Abe, K., Obata, Y., Zinnouchi, C., Kushibiki, T., Tomoshige, R., Harada, T., Tabata, Y., Koji, T., Kohno, S. : Small interfering RNA targeting heat shock protein47 (HSP47) ameliorates renal tubulointerstitial fibrosis in unilateral ureteral obstruction The American Society of Nephrology, Renal Week 2004 (2004.10.27-11.1. St.Louis)
- 阿部克成, 宮崎正信, 小畑陽子, 夏 志銀, 友重龍治, 小路武彦, 田畑泰彦, 河野 茂: カチオン化ゼラチン粒子 (CGM)を用いた siRNA 導入の試み—HSP47 siRNA 投与による腎間質線維化抑制効果の検討—. 第 5 回腎不全病態治療研究会プログラム(2004.11.27. 東京)
- Kawamoto, S., Vernon, R., Shi, Q., Gooden, M., Flynn, J., Tabata, Y., Allen, M. : Vascularizing scaffolds for cardiac tissue engineering by incorporation of microspheres with timed release of basic fibroblast growth factor. Eighth Annual Hilton Head Workshop on Cardiovascular Tissue Engineering (2004.3.6-10. San Francisco)
- Kawamoto, S., Vernon, R., Shi, Q., Gooden, M., Flynn, J., Tabata, Y., Allen, M. : A Vascularized Three-dimensional Scaffold for Myocardial Infarct Repair. Western Thoracic Surgical Association 30th Annual Meeting (2004.6.23-26. Maui)
- 久留隆史, 安永裕司, 田中隆治, 山崎琢磨, 越智光夫, 田畑泰彦: 自己骨髄単核球細胞移植による血管新生と骨新生. 第 19 回日本整形外科学会基礎学術集会(2004.10.21-22. 東京)
- Haraguchi, T., Okada, K., Okita, Y., Tabata, Y. : The Experiment for improving the patency of the vein graft for CABG. The 68th Annual Scientific Meeting of Japanese Circulation society (2004.3.27-29. Tokyo)
- Asamura, S., Isogai, N., Hayakawa, S., Munakata, H, Tabata, Y. and Ikada, Y. : Enhanced auricular cartilage regeneration by sustained release of basic fibroblast growth factor impregnated in gelatin microspheres. Tissue engineering society international and European tissue engineering society (2004.10.10-13. Lausanne)
- 末富崇弘, 久末伸一, 加藤隆一, 佐藤嘉一, 田畑泰彦, 赤座英之, 塚本泰司: 糖尿病ラット ED に対する bFGF 含有ゼラチンマイクロスフェアの効果. 第 15 回日本機能学会総会(2004.9.17-18. 徳島)
- 浜田佳孝, 尾関 真, 安井夏生, 高井宏明, 田畑泰彦: bFGF 徐放化モノナイロン糸を用いた屈筋腱断裂の治癒促進. 第 47 回日本手の外科学会(2004.4.22-23. 大阪)
- 浜田佳孝, 浜田大輔, 安井夏生, 高井宏明, 田畑泰彦: 徐放化モノナイロン糸を用いた塩基性線維芽細胞増殖因子 (b-FGF)による屈筋腱断裂の治癒促進. 第 102 回中部日本整形災害外科学会(2004.3.26-27. 松山)
- 浜田佳孝, 尾関 真, 安井夏生, 田畑泰彦: bFGF 徐放化モノナイロン糸を用いた屈筋腱断裂の治癒促進. 第 7 回日本組織工学会(2004.7.1-2. 東京)
- 浜田佳孝, 浜田大輔, 小坂浩史, 安井夏生, 高井宏明, 田畑泰彦: bFGF 徐放化モノナイロン糸を用いた屈筋腱断裂の治癒促進. 第 19 回日本整形外科基礎学会(2004.10.21-22. 東京)
- 大田信一, 新田哲久, 田中豊彦, 宮川善浩, 友澤祐樹, 佐古田勝, 山崎道夫, 古川 顕, 高橋雅士, 村田喜代史, 井本勝治, 坂本 力, 櫛引俊宏, 田畑泰彦: 溶解時間可変ゼラチン粒子による血管塞栓効果の基礎的検討. 第 33 回日本血管造影・IVR 学会総会(2004.5.7-8. 東京)
- 三崎伯幸, 後藤正司, 岡本 卓, 中野 淳, 榎屋大輝, 中島 尊, 劉 大革, 亀山耕太郎, 石川真也, 山本恭通, 黄 政龍, 横見瀬裕保, 櫛引俊宏, 田畑泰彦: b-FGF 徐放性ゼラチンビーズ懸濁液と PLA-カプロラクトン

- 共重合体による肺切除後死腔充填の実験的検討. 第 21 回日本呼吸器外科学会総会(2004.5.27-29. 横浜)
- 後藤正司, 岡本 卓, 三崎伯幸, 山本恭通, 黄 政龍, 横見瀬裕保, 櫛引俊宏, 田畑泰彦: イヌ肺気腫モデルにおける b-FGF 徐放ゼラチンマイクロスフェアによる肺組織再生の試み. 第 7 回日本組織工学会(2004.7.1-2. 東京)
- 岡本 卓, 後藤正司, 三崎伯幸, 山本恭通, 黄 政龍, 横見瀬裕保, 櫛引俊宏, 田畑泰彦: b-FGF 徐放性 gelatin microspheres(GM)と PLA-カプロラクトン共重合体(PLAC)による胸腔形成. 第 7 回日本組織工学会(2004.7.1-2. 東京)
- Yeung, HY., Lee, KM., Qin, L., Chui, YM., Chow, P., Guo, X., Tabata, Y., and Cheng, J.C.: Vascular endothelial cell growth factor further enhances the osteogenesis induced by bone morphogenetic protein-4 in posterior spinal fusion. The 6th Asian Symposium on Biomedical Materials (2004.7.19-22. Emei)
- Yeung, HY., Lee, KM., Chan, CW., Chui, YM., Guo, X., Chow, P., Tabata, Y., and Cheng, J.C.: Temporal and spatial expression pattern of VEGF and VEGF receptor in the posterior spinal fusion with allograft. The 6th Asian Symposium on Biomedical Materials (2004.7.19-22. Emei)
- Holland, TA., Tessmar, JK., Tabata, Y. and Mikos, AG.: Growth factor release from injectable, enzymatically-degradable hydrogel composites for cartilage tissue engineering. 7th world biomaterials congress (2004.5.17-21. Sydney)
- Cheng, J.C., Yeung, HY., Lee, K.M., Chiu, Y.M., Oin, L., Guo, X., Chow, P. and Tabata, Y.: Synergistic effect of VEGF and BMP4 incorporated hydrogel in osteogenesis of non-decorticated posterior spinal fusion. 7th world biomaterials congress (2004.5.17-21. Sydney)

## 2) 講演・シンポジウム

- 田畑泰彦: 骨再生と DDS. 東京医科歯科大学 COE 公開セミナー(2004.1.29. 東京)
- 田畑泰彦: 再生医療の実現のための材料学の重要性. 京都次世代医療研究会(2004.2.3. 京都)
- 田畑泰彦: 再生医療の現状および展望. バイオサポータズ三会専門知識コース勉強会(2004.2.7. 大阪)
- 田畑泰彦: 循環器内科領域の再生医療の現状. 第 30 回日本内科学会近畿支部生涯教育講演会(2004.2.28. 神戸)
- 田畑泰彦: 生体組織工学を利用した再生医療. 第 2 回京大臨床心血管再生医研究会(2004.3.3. 京都)
- 田畑泰彦: 再生医療のための生体材料の開発. 第 62 回ニューフロンティア材料部会例会(2004.3.5. 大阪)
- 田畑泰彦: 再生医療を支える素材開発と DDS 技術の現状と展望. ニチバン株式会社合同研究技術報告会(2004.3.16. 東京)
- 田畑泰彦: 生体組織工学をベースとした再生医療の実際と展望. 第 11 回日本呼吸器内視鏡学会(2004.3.20. 大阪)
- 田畑泰彦: 再生医療のための生体材料. 第 3 回日本再生医療学会総会(2004.3.23-25. 千葉)
- 田畑泰彦: 再生医療の実現に必要な材料と医工学技術. 第 3 回日本再生医療学会総会—市民講座—(2004.3.23-25. 千葉)
- 田畑泰彦: Regeneration Therapy Based on Tissue Engineering. 第 68 回日本循環器学会総会・学術集会(2004.3.27-29. 東京)
- 田畑泰彦: 生体組織工学(Tissue Engineering)と再生医療. 第 92 回日本泌尿器科学会総会(2004.4.10-13. 大阪)
- Tabata, Y.: Significance of Angiogenic Growth Factor-Induced Vascularization In Tissue Engineering. 7th World Biomaterials Congress (2004.5.17-21. Sydney)

田畑泰彦：生体吸収性高分子を用いた生体組織の再生医療，第 53 回高分子学会年次大会(2004.5.25-27. 神戸)

Tabata, Y.: Contolled Release in Tissue Engineering. 31st Annual Meeting & Exposition of the Controlled Society (2004.6.12-16. Hawaii)

田畑泰彦：生体組織工学と再生医療，バイオ部会定例セミナー－再生医療の現状と必要な研究と技術－(2004.6.23. 大阪)

Tabata, Y.: Contolled Materialization of Tissue Regeneration Based on Release Technology of Growth Factors. 2004 GRC on Signal Transduction By Engineered Extracellular Matrices(2004.6.27-7.2. Lewiston)

田畑泰彦：生体組織工学と再生医療，第 1 回京都大学 COE 公開セミナー(2004.7.6. 京都)

田畑泰彦：生体組織工学を利用した再生医療の現状とその展望，平成 16 年度第 4 回高砂市医師会生涯教育研修会 (2004.7.8. 高砂)

田畑泰彦：再生医療を支える医工学技術－ドラッグデリバリーシステム技術の新たな展開とその方法－，JRA 競走馬総合研究所セミナー(2004.7.28. 宇都宮)

Tabata, Y.: Strategies for Tissue Regeneration and Vascularization Based on Release Technology of Growth Factor. Advanced in tissue engineering 2004(2004.8.11-14. Texas)

田畑泰彦：生体組織工学をベースとした再生医療の実際と展望，株式会社海洋バイオテクノロジー研究所セミナー (2004.8.19. 釜石)

田畑泰彦：高分子材料を活用した先端医療技術の実際－第 12 回バイオサイエンスフォーラム－，第 12 回バイオサイエンスフォーラム(2004.8.28. 和歌山)

田畑泰彦：生体材料を用いた組織再生誘導治療の実際を今後の方向性，北海道医療大学学術フロンティア推進事業中間報告会(2004.8.30. 石狩郡)

田畑泰彦：DDS と再生医療における材料学的重要性，北海道大学創成科学研究機構戦略重点・移植医療・組織工学プロジェクトセミナー(2004.8.31. 札幌)

田畑泰彦：生体組織工学の現状，札幌医科大学がん研究所セミナー(2004.8.31. 札幌)

田畑泰彦：再生医療の実際と再生医療，北海道工業試験所セミナー(2004.9.1. 札幌)

田畑泰彦：再生医療におけるバイオマテリアルの役割－ゼラチン，コラーゲンを中心として－，兵庫県バイオポリマー研究会(2004.9.3. 姫路)

Tabata, Y.: Controlled-release system of bioactive agents for tissue engineering applications. Thailand-Japan Technology Transfer Project Seminar(2004.9.7. Bangkok)

田畑泰彦：再生医療の実際と今後の展望，北海道大学大学院薬学部セミナー(2004.9.15. 札幌)

田畑泰彦：Tissue Engineering を用いた再生医療の実際，北海道大学皮膚科特別講演会(2004.9.16. 札幌)

Tabata, Y.: Therapeutic trials based on combination of drug delivery system and ultrasound. 4th international symposium on therapeutic ultrasound (2004.9.18-20. Kyoto)

Tabata, Y.: Significant role of drug delivery system in regenerative medicine. France-Japan 6th Drug Delivery Symposium(2004.9.19-22. Biarritz)

Tabata, Y.: Significance of Biomaterials and Drug Delivery Technology in cardiovascular Tissue Engineering. 第 8 回日本心不全学会学術集会 (2004.9.30-10.2. 岐阜)

Tabata, Y.: Important role of drug delivery system in regenerative medicine. Taiwan-Japan Advanced Biomaterials Symposium(2004.10.4. Taipei)

田畑泰彦：生体組織工学のためのバイオマテリアル. 第 42 回日本人工臓器学会大会(2004.10.5-7. 東京)

田畑泰彦：組織再生誘導治療に必要な生体材料のデザインと創製. 第 47 回秋季日本歯周病学会学術大会(2004.10.15-16. 仙台)

田畑泰彦：生体組織工学をベースとした再生医療の実際と展望. 第 112 回日本補綴歯科学会学術大会(2004.10.15-17. 横須賀)

田畑泰彦：生体材料と DDS とを用いた生体組織再生誘導治療の実際と展望. 循環器学術フォーラム(2004.10.21. 岐阜)

田畑泰彦：再生医療の最新の話題. 腎再生医療学術講演会(2004.10.25. 長崎)

田畑泰彦：生体材料を用いた再生医療の実際と展望. 第 10 回日本熱傷学会東北地方会(2004.11.6. 秋田)

田畑泰彦：DDS 研究の最先端と将来－生体高分子から合成高分子まで医療への応用の可能性－. 住友製薬株式会社セミナー(2004.11.12. 茨木)

田畑泰彦：高分子ハイドロゲルを用いた細胞増殖因子の徐放化による骨再生. 第 62 回日本化学繊維協会研究会(2004.11.17. 京都)

Tabata, Y.: Biomaterials and tissue regeneration. The 7th International congress cell transplant society(2004.11.17-20. Boston)

Tabata, Y.: Tissue regeneration based on delivery technology of growth factor. The 14th Alexandria International Dental Congress(2004.11.24-26. Alexandria)

Tabata, Y.: Tissue regeneration based on DDS technology. Tissue Engineering Workshop of October 6th University(2004.11.28. Cairo)

田畑泰彦：生体組織の再生誘導治療のための生体材料. 第 19 回「大学と科学」公開シンポジウム－人体にやさしい医療材料－(2004.12.4-5. 東京)

田畑泰彦：現在の先端医療を支える生体材料と DDS の役割. 山之内製薬・創剤研究所講演会(2004.12.13. 焼津)

Tabata, Y.: Induction of tissue regeneration with biomaterials and drug delivery system. Macro 2004(2004.12.14-17. Triruvananthapuram)

Yamamoto, M. and Tabata, Y.: Current progress in tissue regeneration based on growth factor delivery system. Leibniz Institute of Polymer Research Dresden and The Max Bergmann Center of Biomaterials Dresden seminar(2004.10.14. Dresden)



## 組織修復材料学分野 Department of Reporative Materials

分野主任 教授 岩田 博夫

Prof. Hiroo Iwata

### 【研究概要】

現代医療を支える学問的基盤は基礎医学や生物学だけではない。これまでも、多くの工学研究の成果が医療技術の発展に多大な貢献をなしてきた。このような境界領域において工学研究者の果たす役割は、今後、ますます重要になるものと予想する。『医療の発展のために工学者は何をなすべきか』、当分野では日々これを考え、また、材料化学やバイオエンジニアリングの研究を通じて新たな医療技術の開拓に挑戦している。

#### 1. 再生医工学

病気やケガで大きく損なわれた体の機能・構造を再び蘇らせる治療を『再生医療』と呼ぶ。この夢のような治療法の実現に向けて、当研究室では、再生医療に欠かせない移植用細胞や人工細胞外マトリックスを作り出す方法を探究し、また、それらをもとに複雑な組織や臓器を再生させるための技術を開発している。

- (1) 図 1A は胚性幹細胞(ES 細胞)から誘導されたインスリン産生細胞。さらに効率よく分化誘導できれば糖尿病治療の可能性が高まると考えられる。
- (2) 中枢神経変性疾患は高齢化社会における大きな問題である。ES 細胞から作られる神経細胞をパーキンソン病の治療に役立てたいと考えている。
- (3) 臍帯血は造血幹細胞の貴重なソースである。その有効利用には細胞を増幅する技術が欠かせない。
- (4) 組織や臓器は細胞の単なる集合体ではない。血管網が縦横に走り、機能発現には精巧な 3 次元構造が不可欠で

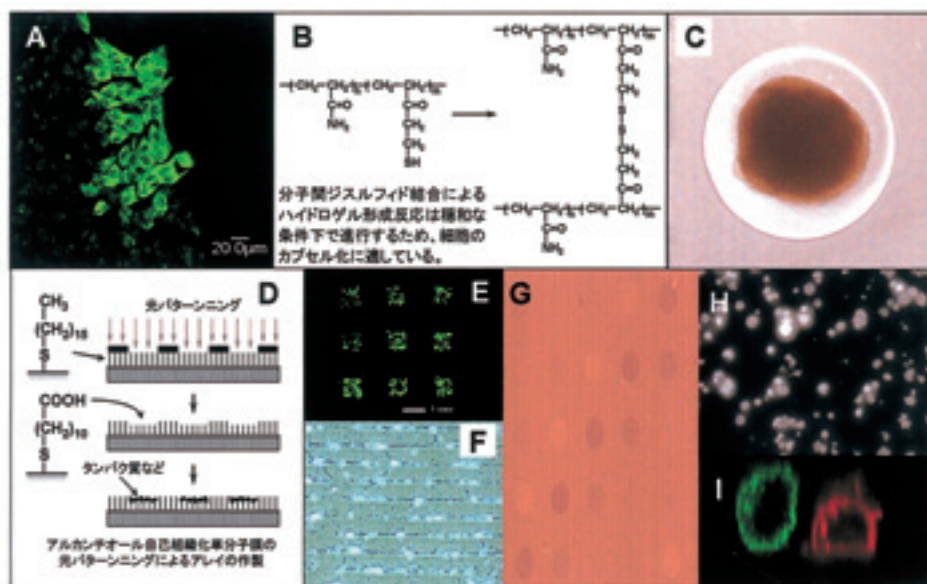


図 1 (A) ES 細胞から分化誘導されたインスリン産生細胞。(B) 分子間ジスルフィド結合によるハイドロゲルの形成。(C) 免疫隔離膜に封入された胚様体。(D) 自己組織化単分子膜の光パターニングによるアレイの作製。(E) トランスフェクショナルアレイ上で遺伝子導入された HEK293 細胞のマイクロスポット。(F) ストライプパターンに沿って突起を伸ばす神経細胞。(G) 表面プラズモン共鳴イメージングによるマイクロアレイのキャラクタリゼーション。(H) 全反射顕微鏡による細胞接着過程の分析。(I) 共焦点レーザー顕微鏡による材料表面-細胞間相互作用の解析。

ある。酵素分解性高分子マトリックスを用いれば 3 次元組織構築が可能である。

## 2. バイオ人工臓器

内分泌器が重篤な疾患に陥ると、生命の維持すらうまく行えないことがある。当研究室では、内分泌器の代替デバイスとして、生きた細胞と人工材料を組み合わせたバイオ人工臓器を開発し、臨床応用に向けた研究を行っている。

- (1) ランゲルハンス島はインスリンを分泌する組織です。糖尿病の治療にその移植が目されていますが、免疫拒絶を回避するには高分子製半透膜によるカプセル化が有効である。
- (2) 万能細胞と呼ばれるヒト ES 細胞も、移植するには免疫拒絶の問題を解決しなければならない。ここでも免疫隔離の技術を活用することができる(図 1B, C)。

## 3. 低侵襲治療デバイス

外科手術における患者の負担をできる限り軽減する努力がなされている。これを可能にする医療用デバイスの開発を材料工学の立場から追求している。ここでは、脳外科分野の研究者や医療機器技術者との協力体制で研究に取り組んでいる。

- (1) 血管の狭窄部位に金属製ステントを留置することで血流を維持することが可能である。電解めっき法を利用して作製したゴールド製ステントは、脳の血管内治療に適した材料特性を備えている。

## 4. 細胞アレイ

細胞を分析対象としたり、細胞を機能素子として利用する細胞アレイ分析法の開発を行っている。ここでは、生体高分子や細胞のマイクロパターン化技術を活用し(図 1D)、細胞や遺伝子の機能を効率よく解析する手法の確立を目指している。細胞チップを用いた分析技術は、再生医療、医薬品開発、臨床検査などの様々な分野に大きなインパクトを与えるものと期待される。

- (1) 各種の抗体をディスプレイしたチップを用いると、細胞表面に発現する多種類の表面抗原を一度に検出することが可能である。
- (2) 多種類のプラスミド DNA や RNA をパラレルに細胞内へ導入し、それらの機能評価を行うためのチップを設計している(図 1E)。新規遺伝子の大規模機能解析はポストゲノム時代の大きな課題である。
- (3) 幹細胞の運命決定には、細胞を取り巻く環境因子が重要な役割を果たす。多種類の細胞外マトリックスをパネル化したチップは、細胞分化に及ぼすマトリックスの影響を調べるための有用なツールである。
- (4) 神経ネットワーク形成の基本メカニズムを解明することは、脳科学の一大テーマである。厳密に形態の制御された神経細胞は(図 1F)、神経ネットワークの単純化モデルを提供するであろう。
- (5) 細胞間の接着に基づく情報伝達は、生体内における組織の構築だけでなく、細胞を加工するうえでも重要である。各種の細胞をディスプレイした細胞アレイは、機能制御に有効な細胞のスクリーニングに威力を発揮する。

## 5. 表面化学

上で述べた各種のデバイスは、細胞や組織のような生きた生体システムと体内あるいは体外で接触し、その界面で起こるさまざまな分子間相互作用を通して目的とする機能を発揮する。そのため、材料表面に接した生体システムの挙動を詳細に理解し、また、それらを厳密に制御することは重要な課題である。

- (1) バイオマテリアル表面のタンパク質吸着特性は、その性能を決定付ける最も重要な因子である。表面プラズモン共鳴法は、タンパク質吸着に関する詳細な情報を得る上で極めて有用性の高い分析手法である(図 1G)。
- (2) 全反射顕微鏡や共焦点レーザー顕微鏡を用いれば、材料-細胞界面の詳細な情報を得ることが可能である(図 1H, I)。バイオマテリアル表面の分子設計には欠かせない情報を与えてくれる。

Modern medical treatments have been developed from not only modern pharmaceutical sciences and molecular biology, but also biomedical engineering. The role of researchers whose background is engineering will be to become more important in such boundary research area in future. We aim to train students from the graduate school of engineering for the biomedical engineer through the researches. Research subjects of our department are listed below :

#### **Cell culture substrates for regenerative medicine**

Cells and extracellular matrixes are important raw materials for regenerative medicine. In recent years, many research groups have devoted enormous efforts to establish in vitro culture conditions in which stem cells, such as ES cells and tissue stem cells, differentiate into various functional cells. Those cells are expected to be very useful for treatment of various diseases. Many kinds of stromal cells have been used to differentiate stem cells to functional cells. However, most of stromal cells preferentially used are derived from mice. Some authorities who are in charge of regulatory issue have pointed out the difficulty to rule out the possibility that retrovirus incorporated in mouse gene will be activated and transferred to stem cells and functional cells derived from stem cells. One of our research activities is focused on the development of stromal cell free culture systems used for the induction of ES cells to various functional cells. ES cells cultured on the substrate, onto which bioactive molecules isolated from stromal cells, are immobilized effectively differentiated to dopaminergic neurons.

Conventional cell culture substrates are not always suitable for cells used for regenerative medicine. Neurons differentiated from ES cells in vitro are very difficult to be collected from a cell culture flask without deterioration of cell functions, because long axons from neurons are easily damaged during detachment of neural cells from the cell culture substrate. Cell sheets but not single cells are needed in some instance, such as regeneration of a skin and a mucous membrane. We have been examining a film of cellulose derivatives for a cell culture substrate. Cells cultured on it are removed by cellulose-degrading enzyme, cellulase, without damaging cells on the substrate.

#### **Bioartificial organs**

**Bioartificial Liver :** Liver is a unique organ that has a strong potential for regeneration. Even after the liver is severely damaged, its regeneration can be expected if the patient is appropriately supported by a medical device for a certain time. A bioartificial liver that contains a large number of living hepatocytes is the most promising device for liver support. We prepare a bioartificial liver by inoculating ten billion porcine hepatocytes into a hollow fiber module. Hepatocytes in hollow fibers formed the firm aggregate of a noodle shape after one day culture. The metabolic functions of the bioartificial liver were evaluated by loading several chemicals. Our bioartificial liver maintained about 1/20 of the metabolic function of the normal adult human liver for more than 10 days.

**Bioartificial pancreas :** Islets of Langerhans have been transplanted to treat insulin-dependent diabetes patients. Adult pancreatic  $\beta$  cells are known to have a poor growth capacity. Islets containing  $\beta$  cells from cadaver donors or animals should be employed. In bioartificial pancreas, islets are encapsulated into a semi-permeable membrane and then implanted into the diabetic patients to protect them from immune rejection. The semi-permeable membrane permits permeation of oxygen and nutrient which are necessary for islet survival, but prohibits contact of islet cells with components of the host immune system. We encapsulated islets into agarose-based microbeads and induced normalization of blood glucose levels of diabetic recipient mice by implanting 1000 microencapsulated hamster islets into the peritoneal cavity.

**Medical devices for least invasive surgery :**

Endovascular surgery is recognized as one of the strategies for the treatment of various neuro-vascular diseases such as cerebral or spinal arteriovenous malformations, dural arteriovenous fistulas and cerebral aneurysms. In this method, a microcatheter is advanced into or close to a lesion and then the lesion is treated by various methods, such as embolization and stenting. It is not so invasive and thus is accepted as an attractive therapy making up conventional surgical techniques. For more than 20 years we have been working on the development of new devices, such as catheters with higher performance, effective embolic materials, and smart stents.

**Cell chips for high-through-put screening :**

Transfectional array : Functional characterization of human genes may be one of the most challengeable tasks in the post-genome era. Due to a huge number of novel genes discovered in genomics, high-throughput methods are required to express or silence in parallel thousands of genes in living cells. The objective of our study is to fabricate transfectional arrays through micropatterning of self-assembled monolayers on a gold substrate and the subsequent site-specific spotting of different expression vectors or short interfering RNAs.

Antibody array : Recent progress in stem cell research provides us with promising options of cell sources for use in tissue engineering. However, insufficient knowledge about specific surface antigens expressed on most of stem cells limits their application in regenerative medicine. To solve this problem, we developed a high-throughput analytical method for typing multiple membrane proteins. Our method is based on solid-phase cytometry using an antibody microarray prepared on a micropatterned alkanethiol monolayer.

The highly-integrated cell arrays prepared by patterning self-assembled monolayers will provide promising platforms for the cell-based high-throughput functional analysis, where live cells are used to screen massively thousands of drugs, proteins, and genes in parallel.

**Surface chemistry for biomedical materials :**

Protein adsorption and complement activation are involved in the initial reactions against man-made materials with living bodies. It is necessary to elucidate these mechanism in relation to the surface properties so as to rationally design biocompatible surfaces of synthetic implants. Most of information on protein adsorption and complement activation by artificial polymeric materials has been accumulated from studies with polymeric materials. However, polymer surfaces could not be assumed rigid and immobile at equilibrium. The polymer molecules in the vicinity of the surface or interface would exhibit motion and relaxation in response to the different interfacial environment. And thus it is difficult to prepare model surfaces using polymeric materials for studies of the complement activation. Self-assembled monolayers of alkanethiols formed on a gold thin film give well-defined model surfaces for studies on interfacial phenomena and intermolecular interactions. The surface plasmon resonance technique can be applied to analyze the interfacial phenomena under water. We have been studying protein adsorption, complement activation, and cell adhesion on well-defined surfaces made of self-assembled monolayers using the surface plasmon resonance technique.



## 【業績目録】

### ◆ 誌上発表 ◆

#### 1) 原著論文

- Iwata, H., Ueda, Y., Pharmacokinetic considerations in development of a bioartificial liver. Clin Pharmacokinet. 43 (4) : 211-25 (2004)
- Iwata, H., Simada, H., Fukuma, E., Ibii, T., Sato, H. : Bioartificial pancreas research in Japan. Artif Organs. 28(1) : 45-52 (2004)
- Hirata, I., Okazaki, M., Iwata, H. : Simple method for preparation of ultra-thin poly(N-isopropylacrylamide) hydrogel layers and characterization of their thermo-responsive properties. Polymer, 45(16) : 5569-5578 (2004)
- Ko, I.-K., Kato, K., Iwata, H. : Antibody microarray for correlating cell phenotype with surface marker. Biomaterials, in press.
- Ko, I.-K., Kato, K., Iwata, H. : Parallel analysis of multiple surface markers expressed on rat neural stem cells using antibody microarrays. Biomaterials, in press.
- Yamauchi, F., Kato, K., Iwata, H. : Micropatterned, self-assembled monolayers for fabrication of transfected cell microarrays, Biochim. Biophys. Acta, 1672 : 138-147 (2004)
- Yamauchi, F., Kato, K., Iwata, H. : Spatially and temporally controlled electroporation of adherent cells on plasmid DNA-loaded electrode, Nucleic Acids Res., 32 : e187 (2004)
- Ying, L., Kang E. T., Neoh K. G., Kato K., Iwata H. : Drug permeation through temperature-sensitive microfiltration membranes prepared from poly(vinylidene fluoride) with grafted poly(N-isopropylacrylamide) side chains. J. Membr. Sci. 243 : 253-262 (2004)
- Tretinnikov, O. N., Kato, K., Iwata, H. : Adsorption of enantiomeric poly(lactide)s on surface-grafted poly(L-lactide), Langmuir, 20 : 6748-6753 (2004)
- Ohyama, T., Ko, I.-K., Miura, A., Iwata, H., Taki, W. : ProNectin F-grafted-ethylene vinyl alcohol copolymer (EVAL) as a liquid type material for treating cerebral aneurysm—an in vivo and in vitro study. Biomaterials, 25(17) : 3845-3852 (2004)
- Ohyama, T., Nishide, T., Iwata, H., Taki, W. : Development of gold stents for the treatment of intracranial aneurysms : an experimental study in a canine model. AJNR Am. J. Neuroradiol. 25(1) : 53-59 (2004)
- Matsumura, K., Hyon, S-H, Nakajima, N., Iwata, H., Watazu, A, Tsutsumi, S. : Surface modification of poly(ethylene-co-vinyl alcohol) : hydroxyapatite immobilization and control of periodontal ligament cells differentiation. Biomaterials. 25(19) : 4817-4824 (2004)
- Ohta, M., Handa, A., Iwata, H., Rufenacht DA, Tsutsumi S. : Poly-vinyl alcohol hydrogel vascular models for in vitro aneurysm simulations : the key to low friction surfaces. Technol. Health Care. 12(3) : 225-233 (2004)

#### 2) 著 書

- Iwata, H. : Tissue Engineering of Pancreas, Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering, Marcel Dekker, 1604-1612 (2004)
- Kato, K. : Self-assembled monolayers. Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering, Marcel Dekker, Inc.,

New York, NY, U.S.A., pp. 1331-1339. (分担執筆)(2004)

加藤功一；材料表面への生体組織結合能の付与，表面・界面工学体系，テクノシステム，東京，印刷中。(分担執筆)

山内文生，加藤功一，岩田博夫，アレイ技術の応用(新しいアレイ技術)：トランスフェクショナルアレイ，ゲノム研究実験ハンドブック(辻本豪三，田中利男 編，羊土社，東京)，198-202(2004)

### 3) 総 説

加藤功一：細胞チップの設計と生医学分野への応用，生体材料，印刷中

藤田 聡，岩田博夫：再生医療と組織工学，高分子材料・技術総覧(産業技術サービスセンター)，(2004)

## ◆ 学会等の発表 ◆

### 1) 学会・研究会発表

岩田博夫：バイオ人工臓臓—細胞源と免疫隔離膜—，日本医工学治療学会 第19回学術大会(2003.5.16-19. 札幌)

岩田博夫，山添泰宗：細胞アレイを用いた ES 細胞から神経細胞への分化誘導活性を有するフィーダー細胞の探索，第53回高分子討論会(2004.9.17. 札幌)

加藤功一，高 寅甲，岩田博夫：抗体アレイによる神経幹細胞表面マーカーのパラレル分析，第3回日本生体材料および再生医学研究会(2004. 11.26. 大阪)

Ko I. -K., Kato K., Iwata H. : Neural stem cell surface markers analysed by parallel cell binding assays on antibody microarrays. 7th World Biomaterials Congress(2004. 5. 17-21. Sydney)

佐藤秀樹，嶋田英輝，伊比井崇向，末盛博文，中辻憲夫，岩田博夫：カニクイザル ES 細胞からインスリン産生細胞への分化誘導，第3回再生医療学会(2004. 3.23-25. 千葉)

佐藤秀樹，嶋田英輝，伊比井崇向，末盛博文，中辻憲夫，岩田博夫：カニクイザル ES 細胞からインスリン産生細胞への分化誘導，第7回日本組織工学会(2004. 7.1-2. 東京)

佐藤秀樹，岩田博夫：人工臓臓と再生医療，第42回日本人工臓器学会(2004. 10.5-7. 東京)

藤田 聡，北原七恵，辻 孝，井田憲司，杉並 洋，岩田博夫：ヒト不死化間葉系幹細胞を用いた造血前駆細胞の増幅，第66回日本血液学会総会・第46回日本臨床血液学会総会(2004. 9.17-19. 京都)

Yamazoe, H., Murakami, Y., Iwata, H. : Cell Culture Surface for Differentiation of Mouse ES Cells to Neural Fate. 7th World Biomaterials Congress(2004.5.18. Sydney)

山添泰宗，岩田博夫：ES 細胞から神経細胞への分化誘導活性を有するフィーダー細胞のスクリーニング法，第33回医用高分子シンポジウム(2004.7.26-27. 東京)

Arima, Y., Kato K. and Iwata, H. : Time-lapse observation of cell adhesion by evanescent field imaging technique, 7th World Biomaterials Congress(2004. 5. 17-21. Sydney)

有馬祐介，岩田博夫：種々の官能基を有する自己組織化単分子膜へのタンパク質の吸着とその後の細胞接着，第53回高分子学会年次大会(2004. 5. 25-27. 神戸)

有馬祐介，岩田博夫：エバネッセント場を利用した生体—材料表面間相互作用の解析，第65回応用物理学会学術講演会(2004. 9. 1-4. 仙台)

Yamauchi F., Kato K., Iwata H. Electric pulse-triggered gene transfer into adherent cells on a DNA-loaded electrode.

**7th World Biomaterials Congress (2004. 5. 17-21. Sydney)**

山内文生, 加藤功一, 岩田博夫: DNA 担持金基板を用いた細胞へのエレクトロポレーション, 第 53 回高分子学会年次大会(2004. 5. 25-27. 神戸)

山内文生, 加藤功一, 岩田博夫: DNA 担持透明電極基板を用いた接着細胞への遺伝子導入, 第 53 回高分子討論会(2004. 9.15-17. 札幌)

伊比井崇向, 嶋田英輝, 佐藤秀樹, 岩田博夫: マウス ES 細胞からインスリン分泌細胞への分化誘導と素の継代培養, 第 3 回日本再生医療学会総会(2004. 3. 25. 千葉)

藤本裕之・吉迫智・加藤功一・岩田博夫, 細胞内遺伝子機能の解析を目的とした siRNA トランスフェクショナルアレイの試み, 第 33 回医用高分子シンポジウム(2004. 7.26-27. 東京)

中島雅文, 石室俊成, 高 寅甲, 加藤功一, 岩田博夫, 神経幹細胞の分化制御に適した基材表面のスクリーニング, 第 53 回高分子討論会, (2004. 9.15-17. 札幌)

中島雅文, 高 寅甲, 加藤功一, 岩田博夫, 細胞外マトリックスアレイ上での神経幹細胞の分化, 第 50 回高分子研究発表会, (2004. 7.15-16. 神戸)

**2) 講演・シンポジウム**

岩田博夫: 細胞アレイ? 分子の同定から機能の推定へ, 第 4 回 CERES 研究会(2004. 7. 14. 東京)

岩田博夫: 先端医療のためのバイオマテリアル, 化学工学会関西支部開設 50 周年記念特別セミナー(2004.8.6. 大阪)

岩田博夫: 幹細胞研究と医工学, 第四回山梨再生・移植研究会(2004. 11.10. 山梨)

岩田博夫, 有馬祐介: エバネッセント光を利用した細胞接着過程の解析, 第 62 回日本化学繊維研究所講演会(2004. 11.17. 京都)

加藤功一: 細胞チップの設計と生医学分野への応用, 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2004(2004.11.15-16. つくば)

加藤功一: 再生医学研究のための細胞アレイ, 第 8 回組織工学・再生医学ワークショップ, (2004.12.18. 京都)

加藤功一, 岩田博夫: 表面の微細パターンニングによる細胞チップの創成とその応用, 繊維学会第 29 回関西繊維科学講演会, (2004.12.8. 大阪)

有馬祐介, 岩田博夫: エバネッセント場を利用した生体? 材料表面間相互作用の解析, 第 65 回応用物理学会学術講演会(2004.9.2. 仙台)

有馬祐介, 堀川 毅, 岩田博夫: 全反射蛍光顕微鏡を用いた細胞接着過程の観察, 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2004 (2004.11.15-16. つくば)

山添泰宗, 岩田博夫: 細胞アレイによる ES 細胞から神経細胞への分化誘導活性を有するフィーダー細胞のスクリーニング, 日本バイオマテリアル学会 シンポジウム 2004 (2004.11.15-16. つくば)

高 寅甲, 加藤功一, 岩田博夫: 表面マーカータイピングを可能にする抗体マイクロアレイ, 第 2 回京都大学医工連携シンポジウム(2004.7.2. 京都)

山内文生, 加藤功一, 岩田博夫: トランスフェクショナルアレイの開発, 第 2 回京都大学医工連携シンポジウム(2004.7.2. 京都)

## 再生統御学研究部門

## 発生分化研究分野

## Department of Development and Differentiation

分野主任 中辻 憲夫

Prof. Norio Nakatsuji

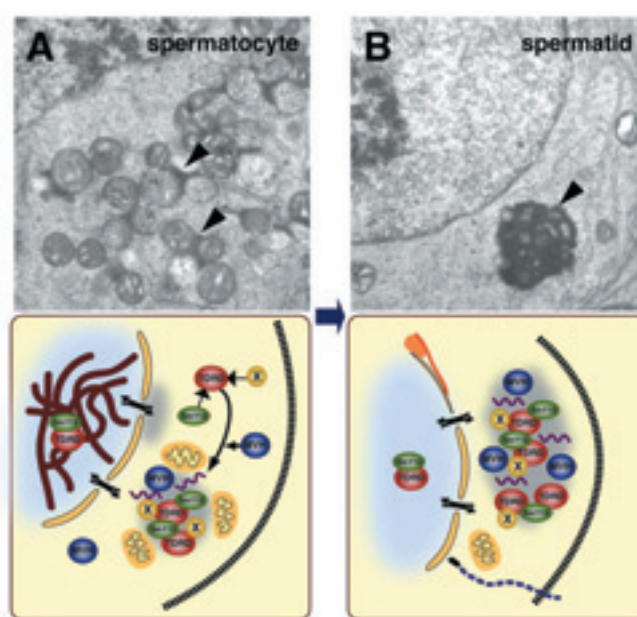
## 【研究概要】

## (1) マウス生殖細胞の発生分化機構に関する研究

哺乳類の個体発生と世代間の連続は生殖細胞と胎仔多能性幹細胞の繰り返しにより成立しており、これら生殖系列細胞に内在する分子システムは各種体細胞系列が分岐する際の基底状態を形成するものと考えられる。当研究グループはマウス生殖系列細胞の発生分化制御機構の解明に取り組んでいるが、特に生殖細胞細胞質内に特徴的に観察される生殖顆粒構造の構成分子の機能解析を進めている。これまでに我々は **Tudor** ドメインの繰り返し構造を持つ **TDRD1/MTR1**, **TDRD6**, **TDRD7/TRAP** 蛋白質がマウス雄生殖顆粒構造に特異的に局在する事を明らかにした。また **Tudor** ドメインは単独で生殖顆粒への局在が可能であるがその過剰発現は生殖細胞の分化異常を引き起こす事、**mRNA** スプライシングに関与する **snRNPs** が生殖顆粒構造に局在し **TDRD1** と複合体を形成する事、**TDRD1** が **snRNPs** と共に核内構造である **cajal/coiled body** にも集積する事、**Tdrd1** 遺伝子変異マウス個体は雄生殖細胞の成熟過程で分化異常を示す事、**TDRD1** の生殖顆粒構造への局在は **Mvh** により制御される事等を明らかにした。現在、哺乳類 **tudor** 関連遺伝子群の解析を進めると共に、雌生殖顆粒構成分子の同定を試みている。

## (2) 神経細胞の発生・分化を制御する分子機構

哺乳類の神経系には多種多様な神経細胞が存在し、高次脳機能を支えている。個々の神経細胞の各々に特徴的



マウス精母細胞(A)と精子細胞(B)の電子顕微鏡像(上段)と模式図(下段)。矢頭が生殖顆粒構造。

な性質(neuronal identity)の決定に関わる遺伝子の同定と機能解析を進めている。また, *in vivo electroporation* 法を用い, マウス胎仔神経系の種々の部位に高効率で遺伝子導入する実験系を開発し, マウス神経系での遺伝子機能を解析している。Bar 型ホメオボックス遺伝子 *MBH1* は, E-box を介してヘリックス・ループ・ヘリックス型転写因子の *Math1* で制御され, 転写抑制因子として交連神経細胞の分化を制御することを明らかにした。さらに, 大脳皮質の発生過程で一過的に *Notch* 機能を活性化させ, 神経幹細胞の性質を解析することにより, 大脳皮質の神経幹細胞は神経分化を止めても, 発生の時間軸とともに性質を変えることが明らかとなった。

#### (1) Molecular and cellular mechanisms of development and differentiation of mammalian germ cells

The succession between germ cells and pluripotent cells are fundamentals for ontogeny of individuals and continuity through generations in mammals. Molecular mechanisms underlying these germ-line cells serve as basal states for the derivation of somatic cell lineages. We aim to elucidate such basic molecular systems underlying in the germ-line cells, and are currently focusing on cytoplasmic structure in the germ cells, called nuage or germ granule, through identification and functional analyses of the components. We have shown that (1) proteins containing multiple Tudor domains, TDRD1/MTR1, TDRD6 and TDRD7/TRAP in mice specifically localize to nuage during spermatogenesis, (2) a single Tudor domain is sufficient for the localization to nuage, but its over-expression causes meiotic defect during spermatogenesis, (3) spliceosomal complex snRNPs accumulate to nuage during spermatogenesis and form complex with TDRD1, (4) mice homozygous for a targeted mutation of *Tdrd1* are male-sterile, and (5) localization of TDRD1 to nuage is under the control of *Mvh* activity. Further analyses on these mammalian tudor-related genes are in progress. We are also trying to isolate specific components of nuage in female germ cells.

#### (2) Molecular mechanisms to control neural development and neuronal differentiation.

The mammalian nervous system comprises an enormous number of cell types. We have been trying several approaches at the both cellular and molecular levels to understand how neuronal identity is determined. The *in vivo electroporation* method into the mouse nervous system has been developed in order to analyze gene function *in vivo*. We have established that the mammalian Bar-class homeobox gene, *MBH1*, is directly regulated by a proneural helix-loop-helix protein, *Math1*, and that *MBH1* plays a pivotal role in the determination of commissural neuron identity. By using double *in vivo electroporation*, we have shown that progenitors resume generating neurons after temporary inhibition of neurogenesis by *Notch* activation in the mammalian cerebral cortex.

### 【業績目録】

#### ◆ 誌上発表 ◆

##### 1) 原著論文

Chuma, S., Kanatsu-Shinohara, M., Inoue, K., Ogonuki, N., Miki, H., Toyokuni, S., Hosokawa, M., Nakatsuji, N., Ogura, A., Shinohara, T. : Spermatogenesis from epiblast and primordial germ cells following transplantation into post-natal mouse testis. *Development* (in press)

Chang, C., Tsai, C., Wang, H., Tsai, H., Chen, H., Tsai, T., Takahashi, H., Li, H., Fann, M., Yang, C., Hayashizaki, Y., Saito, T., Liu, F. : Identification of a developmentally regulated striatum-enriched zinc-finger gene, *Nolz-1*, in the mammalian brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101** : 2613-2618 (2004)

Miyagi, S., Saito, T., Mizutani, K., Masuyama, N., Gotoh, Y., Iwama, A., Nakauchi, H., Masui, S., Niwa, H., Nishimoto, M., Muramatsu, M., Okuda, A. : The Sox-2 regulatory regions display their activities in two distinct multipotent stem cells. *Mol. Cell. Biol.* **24** : 4207-4220(2004)

---

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

Shoji, M., Chuma, S., Yoshida, K., Morita, T., Nakatsuji, N. : In vivo RNA interference in mouse spermatogenesis using electroporation of the testis. CSHL meeting “Germ cells”(2004.10.13-17. New York)

庄司昌伸, 中馬新一郎, 吉田佳世, 森田隆, 中辻憲夫 : In vivo RNA interference in mouse spermatogenesis using electroporation of the testis. 第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12. 8-11. 神戸)

川内大輔, 斎藤哲一郎, 村上富士夫 : 小脳前核細胞群の核の起源は片側菱脳唇由来か, それとも両側菱脳唇由来か. 神経科学会第 27 回大会(2004.9.22. 大阪)

水谷健一, 斎藤哲一郎 : Notch 機能の応用による大脳皮質神経発生機構の解析. 日本分子生物学会第 26 回年会(2004.12.10. 神戸)

2) 講演・シンポジウム

中辻憲夫 : 特別講演「ES 細胞と再生医学」. 第 51 回日本生化学会近畿支部例会(2004.5.22. 和歌山)

Nakatsuji, N. : Establishment and manipulation of monkey and human ES cell lines for biomedical research. 14<sup>th</sup> Lake Shirakaba Conference International Symposium on Epigenetics and Regenerative Medicine(2004.6.23. Copenhagen)

中辻憲夫 : 特別講演「ヒト ES 細胞株の樹立と研究利用」. 平成 16 年度発酵と代謝研究会シンポジウム(2004.7.9. 京都)

中辻憲夫 : 特別講演「ヒト ES 細胞株の樹立と医学応用」. 第 44 回日本先天異常学会学術集会(2004.7.16. 佐賀)

Nakatsuji, N. : Establishment and manipulation of monkey and human ES cell lines for biomedical research. The 15<sup>th</sup> International Symposium on Molecular Biology of Hematopoiesis(2004.8.7. Tokyo)

中辻憲夫 : ヒト ES 細胞株の樹立と医学研究. 第 22 回内分泌・代謝学サマーセミナー(2004.8.21. 淡路島)

Nakatsuji, N. : Establishment and manipulation of monkey and human ES cell lines for biomedical research. The 3rd International Symposium of Stem Cell(2004.9.15. Shenyang, China)

中辻憲夫 : 教育講演「ヒト ES 細胞」. 第 66 回日本血液学会総会(2004.9.18. 京都)

中辻憲夫 : ヒト ES 細胞はなぜ万能細胞と呼ばれるのか. 日本農芸化学会 2004 年度関西支部大会(2004.10.2. 大津)

中辻憲夫 : ヒト ES 細胞株の樹立 : 基礎研究・先端医療と生命倫理を考えるケーススタディー. 京都大学 21 世紀 COE プログラム「融合的移植再生治療を目指す国際拠点形成」公開シンポジウム「再生医療と生命倫理」(2004.10.3. 京都)

Nakatsuji, N. : Establishment and distribution of human embryonic stem cell lines in Japan-Present and future. The 10<sup>th</sup> International Congress for Culture Collections(2004.10.15. Tsukuba)

Nakatsuji, N. : Human ES cells. Ernst Schering Research Foundation and Riken Center for Developmental Biology Workshop “The Promises and Challenges of Regenerative Medicine”(2004.10.21. Kobe)

中辻憲夫：特別講演「ヒト ES 細胞株の樹立と創薬研究および再生医学への活用」，第 54 回日本薬学会近畿支部総会・大会(2004.10.23. 神戸)

Nakatsuji, N. : Research of human ES cells and its application to the R&D of new drugs. The 5<sup>th</sup> Kitasato University-Harvard School of Public Health Symposium(2004.10.26. Tokyo)

中辻憲夫：ヒト ES 細胞株の樹立と再生医療と創薬研究への利用，第 17 回チバビジョンシンポジウム(2004.11.4 東京，2004.11.6. 大阪)

中辻憲夫：ヒト ES 細胞株の樹立と研究利用，第 7 回日本 IVF 研究会(2004.11.6. 大阪)

中辻憲夫：再生医学と万能細胞(ES 細胞)，京都大学岐阜講演会(2004.11.25. 岐阜)

中馬新一郎，中辻憲夫：マウス生殖顆粒構成因子の同定と機能解析，特定領域公開シンポジウム「生殖細胞の発生プロセス・再プログラム化とエピジェネティクス」(2004.2.13. 京都)

庄司昌伸，細川美穂子，喜多村晃一，中馬新一郎，中辻憲夫：マウス雄生殖細胞の分化過程における *in vivo* 遺伝子機能解析系，特定領域公開シンポジウム「生殖細胞の発生プロセス・再プログラム化とエピジェネティクス」(2004. 11. 16-17. 大阪)

---

## 再生誘導研究分野 Department of Stem Cell Biology

分野主任 教授 山中 伸弥

*Prof. Shinya Yamanaka*

### 【研究概要】

哺乳動物初期胚(胚盤胞の内部細胞塊)から樹立された幹細胞である ES 細胞はすべての細胞に分化できる多能性を維持したまま無限に増殖する。これらの特性から，ヒト ES 細胞は再生医学への応用が期待されている。しかしヒト胚を利用することに対して倫理的見地からの強い反対論があり，患者に移植した際の拒絶反応や腫瘍形成も大きな問題となる。私たちは患者自身の細胞から ES 細胞に類似した多能性と増殖能を有し，腫瘍形成能は持たない幹細胞を樹立することを目標に研究を行っている。そのために，ES 細胞が分化多能性，高い増殖能および腫瘍形成能を維持する分子機構を解析している。また分化細胞核を初期化する因子の探索を行っている。

#### (1) ES 細胞における分化多能性の維持メカニズム

ES 細胞や受精卵などの多能性細胞で特異的に発現する遺伝子(ECAT: ES cell associated transcript)を複数同定し，その機能解明を行っている。これまでにホメオボックス転写因子である ECAT4 (Nanog) が ES 細胞と初期胚における多能性維持に必須の役割を果たしていることを明らかにした。マウス ES 細胞は多能性を維持するためにサイトカイン LIF による STAT3 の活性化が必須であるが，Nanog を ES 細胞において過剰に発現させると，STAT3 に依存せず多能性が維持できることがわかった。初期発生において内部細胞塊の細胞は多能性を維持したエピプラストと分化細胞である原始内胚葉に運命が別れていくが，Nanog は原始内胚葉への分化を抑制することがわかつ

た。また ECAT 以外でも、蛋白質翻訳の調節因子と考えられている NAT1 が分化多能性に必須であることを明らかにした。NAT1 はショウジョウバエから哺乳類にいたるまでの動物細胞で保存されており、すべての種において AUG 以外のコドンから翻訳が開始される特異的な蛋白質であることを明らかにした。現在、他の ECAT 遺伝子の機能解明と Nanog や NAT1 の詳細な解析を行っている。

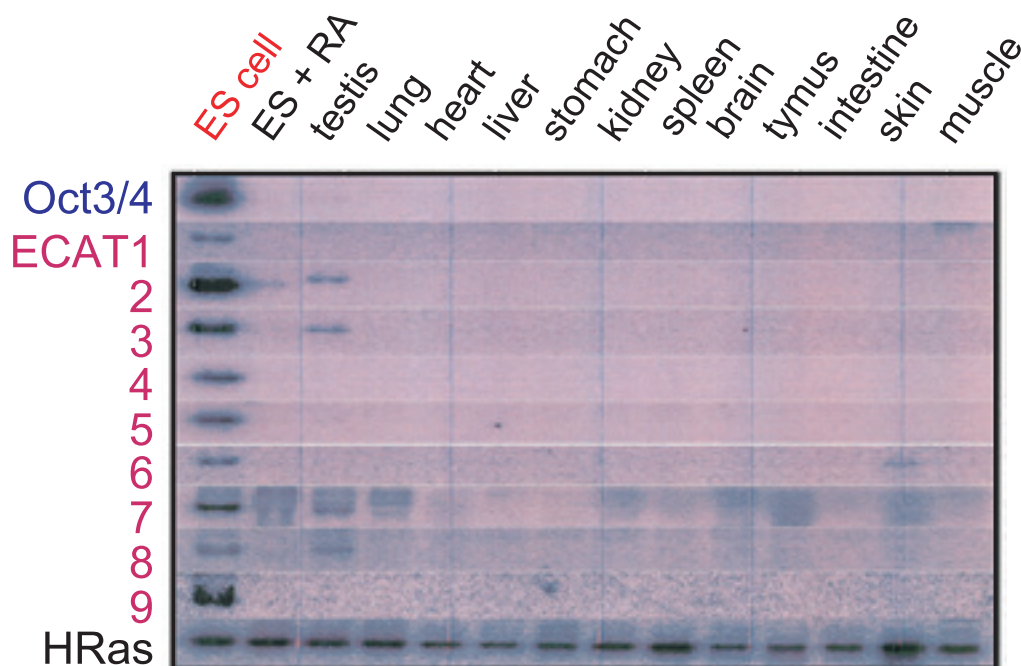
### (2) ES 細胞における高い増殖能と腫瘍形成能の維持メカニズム

遺伝子異常を持たない ES 細胞が、なぜガン細胞と同じように増殖できるのか、その謎を探っている。これまでに ECAT5(ERas)は恒常活性型の Ras 蛋白質であり、ES 細胞の増殖を促進していることを明らかにした。Ras 蛋白質は Raf, RalGDS, PI3 キナーゼなどのエフェクター因子と結合することにより増殖や分化などを引き起こすが、ERas は PI3 キナーゼを特異的に活性化することわかった。PI3 キナーゼの下流因子としてセリンスレオニンキナーゼである mTOR が知られているが、初期胚や ES 細胞の増殖に mTOR が必須であることを明らかとした。今後、ERas や mTOR を含めて、ES 細胞の増殖を支えるシグナル伝達の全容を明らかにする必要がある。

### (3) 細胞核初期化因子の探索

体細胞から ES 類似細胞への初期化現象を鋭敏に捉える実験系を確立した。現在、初期化能力のある薬剤や遺伝子の同定に取り組んでいる。

Embryonic stem (ES) cells derived from inner cell mass of mammalian blastocysts proliferate infinitely while maintaining pluripotency. These properties make ES cells attractive sources for cell therapy to various diseases, such as diabetes and Parkinson Disease. However, many people are against using human ES cells since human embryos have to be destroyed. In addition, undifferentiated ES cells cause tumors when transplanted, which might preclude their therapeutic usage. The ultimate goal of our research is to establish pluripotent and immortal, but not tumorigenic, stem cells directly from patient's somatic cells. To this end, we have been trying to understand molecular mechanisms underlying pluripotency, rapid proliferation and tumorigenicity of ES cells. We have been also trying to identify factors



ECAT 遺伝子のノザンブロット



that can induce nuclear reprogramming.

**(1) Molecular mechanisms underlying pluripotency**

By analyzing expressed sequence tag databases, we were able to identify a number of genes that are specifically expressed in ES cells and early embryos. We designated these genes ECAT for ES cell associated transcript. We have shown that ECAT4 encodes a novel homeobox transcription factor Nanog. Targeted disruption of the mouse Nanog gene caused loss of pluripotency and induced differentiation into primitive endoderm lineages in both inner cell mass and ES cells. Overexpression of Nanog rendered ES cells independent of LIF, a cytokine that normal ES cells rely on for self-renewal. Furthermore, we showed that Nanog is able to render ES cells independent of STAT3, a transcription factor activated by LIF and other cytokines.

In addition to ECAT, we have shown that NAT1, a translational regulator, is essential for pluripotency of ES cells. NAT1-null ES cells are normal when undifferentiated, but their ability to differentiate is severely hampered. We found that NAT1 is conserved from fly to mammals, and all NAT1 orthologs utilize non-AUG translation initiation codons. We are now trying to determine the functions of other ECAT genes. We are also analyzing upstream regulators and downstream targets of Nanog and NAT1.

**(2) Molecular mechanisms underlying rapid proliferation and tumorigenicity**

It is largely unknown how ES cells possess tumor-like properties without having any genetic abnormalities. We have shown that ECAT5 encodes a novel Ras family protein, which we designated ERas for ES cell expressed Ras. ERas is constitutively active and specifically activates PI3 kinase as the downstream effector. In contrast, ERas does not activate two other well known Ras effectors, Raf and RalGDS. A serine/threonine kinase mTOR is known as a downstream target of PI3 kinase. We disrupted the mouse mTOR gene by homologous recombination and showed that mTOR is essential for proliferation of both ES cells and early embryos. These data highlight important roles of the PI3 kinase pathway in rapid proliferation and tumorigenicity of ES cells.

**(3) Identification of factors that can induce nuclear reprogramming**

We have developed a system in which nuclear reprogramming can be seen as resistance to antibiotics such as G 418 or puromycin. We are now trying to identify genes or other molecules that can convert differentiated cells back into the embryonic state.

**【業績目録】**

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Wang X, Beugnet A., Murakami M., Yamanaka S. and Christopher G. Proud CG. Distinct signaling events downstream of mTOR co-operate to mediate the effects of amino acids and insulin on initiation factor 4E-binding proteins. *Mol. Cell. Biol.* in press

Takahashi K., Maruyama M., Tokuzawa Y, Murakami M, Oda Y, Yoshikane N, Makabe KW, Ichisaka T, Yamanaka S. Evolutionarily Conserved Non-AUG Translation Initiation in *NAT1/p97/DAP5 (EIF4G2)*, *Genomics* **85** : 360-71, 2005

Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Tanaka M, Matsuki Y, Murakami M, Ichisaka T, Murakami H, Watanabe E,

Takagi T, Akiyoshi M, Ohtsubo T, Kihara S, Yamashita S, Makishima M, Funahashi T, Yamanaka S, Hiramatsu R, Matsuzawa Y & Shimomura I. Visfatin : A Protein Secreted by Visceral Fat that Mimics the Effects of Insulin. *Science* **307** : 426-30, 2005

Hamazaki T., Oka M., Yamanaka S. & Terada N. Aggregation of embryonic stem cells induces Nanog repression and primitive endoderm differentiation. *J Cell Sci.* **117** : 5681-5686, 2004

Tomoda K., Kato-Yoneda N., Fukumoto A., Yamanaka S. & Kato J.Y. Multiple Functions of Jab1 Are Required for Early Embryonic Development and Growth Potential in Mice. *J. Biol. Chem.*, **279** : 43013-8, 2004

Murakami M., Ichisaka T., Maeda M., Oshiro N., Hara K., Edenhofer F., Kiyama H., Yonezawa K. & Yamanaka S. mTOR is essential for Growth and Proliferation in Early Mouse Embryos and Embryonic Stem Cells. *Mol. Cell. Biol.* **24** : 6710-6718, 2004

Matsuda E., Shigeoka T, Iida R., Tocharus C., Yamanaka S., Kawaichi M. & Ishida Y. Expression Profiling with Arrays of Randomly Disrupted Genes in Mouse ES Cells Leads to in Vivo Functional Analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101** : 4170-4, 2004

Mak W., Nesterova TB., de Napoles M., Appanah R., Yamanaka S., Otte AP, and Neil Brockdorff N. Reactivation of the Paternal X Chromosome in Early Mouse Embryos. *Science* **303** : 666-669, 2004

## 2) 著 書

Takahashi K., Ichisaka T. and Yamanaka S. Identification of genes involved in tumor-like properties of ES cells. *Embryonic Stem Cells-II : Methods and Protocols*, in press

Tokuzawa Y., Maruyama M. and Yamanaka S. Utilization of digital differential display to identify novel targets of Oct3/4. *Embryonic Stem Cells-II : Methods and Protocols*, in press

## 3) 総 説

高橋和利, 村上未玲, 一阪朋子, 山中伸弥 E Ras による E S 細胞の腫瘍形成制御機構 *細胞工学* **24** : 17-19, 2005

山中伸弥 ES 細胞の分化多能性を支えるホメオボックス蛋白質 Nanog *Medical Science Digest* **30** : 478-479, 2004

笹岡由美子, 山中伸弥 哺乳類の初期発生と E S 細胞分化における eIF4G 関連タンパク質 NAT1 の役割 *実験医学* **22** : 17 増刊 213-217, 2004

山中伸弥 分化多能性に必須のホメオタンパク質 Nanog *実験医学* **22** : 1689-1693, 2004

山中伸弥 ES 細胞の自己複製を維持するシグナル伝達 蛋白質核酸酵素 **49** : 704-709, 2004

## ◆ 学会等の発表 ◆

### 1) 学会・研究会発表

山中伸弥 : Mechanisms underlying pluripotency and rapid proliferation of mouse embryonic stem cells 第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12.9. 神戸)

徳沢佳美, 山中伸弥 : ES 細胞の多能性を維持する遺伝子 STAT3 及び Nanog の標的遺伝子探索 第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12.9. 神戸)

丸山昌良, 一阪朋子, 山中伸弥 : マウス ES 細胞で発現する Sry 関連遺伝子 Sox2 と ECAT10 の標的遺伝子の探索

第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12.9. 神戸)

小田泰昭, 一阪朋子, 山中伸弥: 未分化 E S 細胞で発現する TGF- $\beta$  関連遺伝子 ECAT の機能解析 第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12.9. 神戸)

天野恭志, 一阪朋子, 山中伸弥: ES 細胞で特異的に発現する ECAT2 の機能解析 第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12.9. 神戸)

今村公紀, 山中伸弥: ES 細胞で特異的に発現する ECAT2 の機能解析 第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12.9. 神戸)

坪岡則子, 山中伸弥: ECAT20 遺伝子のマウス ES 細胞および精巣特異的発現における DNA メチル化の関与 第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12.9. 神戸)

吉兼奈美, 上野直人, 山中伸弥, 中村真: *Drosophila* NAT1 遺伝子の変態期における機能解析 第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12.9. 神戸)

友田紀一郎, 加藤規子, 福本晃久, 山中伸弥, 加藤順也: ノックアウトマウスを用いた Jab1 の機能解析 第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12.9. 神戸)

山中伸弥: Digital Differential Display - A Powerful Tool to Define Molecular Signature Frontiers in Biomedical Research HKU 2004(2004.12.3. 香港)

山中伸弥: ES 細胞における分化多能性と増殖能の分子機構 第 5 回 心血管再生医学研究会(2004.10.30. 東京)

山中伸弥: ES 細胞における分化多能性と高い増殖能の維持メカニズム 第 66 回日本血液学会総会, 第 46 回臨床血液学会総会(2004.9.19. 京都)

山中伸弥: ES 細胞の身分化性 第 2 回血管病研究会(2004.8.27. 兵庫)

山中伸弥: Global Analyses of target genes of Nanog and STAT3 in mouse embryonic stem cells 2nd ISSCR Annual Meeting(2004.6.11. USA)

山中伸弥: トランスクリプトーム解析から見えてきた ES 細胞の秘密 第 31 回日本トキシコロジー学会学術年会(2004.7.7. 大阪)

山中伸弥: Global Analyses of target genes of Nanog and STAT3 in mouse embryonic stem cells 2nd ISSCR Annual Meeting(2004.6.11. USA)

高橋和利, 一阪朋子, 山中伸弥: Downstream target of the Eras/PI3K pathway that promotes tumor-like properties of mouse embryonic stem cells. 2nd ISSCR Annual Meeting(2004.6.11. USA)

山中伸弥: Upstream and downstream regulators of Nanog and ERas, two important molecules in ES cell biology. The 61st Annual Meeting 2004, From Molecules To Systems(2004.5.26. 韓国)

山中伸弥: ES 細胞とクローン技術 第 87 回近畿臨床歯科麻酔研究会(2004.4.17)

山中伸弥: 胚性幹(ES)細胞の増殖を促進している新規 Ras 蛋白質 ERas 第 77 回日本薬理学会年会(2004.3.8. 大阪)

2) 講演・シンポジウム

山中伸弥: 哺乳動物における分化多能性 発生生物学のフロンティア(2004.12.20. 京都)

山中伸弥: The making of pluripotent Stem Cells. Joint Forum - IFMS(京大再生研), IMEG(熊本発生研), CDB(2004.11.22. 神戸)

山中伸弥: Factors that maintain pluripotency in embryonic stem cells 第 17 回内藤カンファレンス(2004.11.17. 神

奈川)

山中伸弥：ES 細胞における分化多能性と高い増殖能の維持機構 第 9 回 遺伝子実験施設セミナー(2004.11.5. 熊本)

山中伸弥：ES 細胞における多能性と増殖能の維持メカニズム 第 22 回内分泌・代謝学サマーセミナー(2004.8.21. 兵庫)

山中伸弥：ES 細胞における分化多能性と高い増殖能の維持機構 第一回 疾患モデル動物開発セミナー「ES 細胞と遺伝子操作マウス(2004.8.9. 宮城)

山中伸弥：ES 細胞の生物学―臨床応用の実現を目指して 高知大学医学部大学院講義 (2004.6.25. 高知)

山中伸弥：万能細胞が孕む腫瘍形成の克服 東京テクノフォーラム 21(2004.6.15. 東京)

山中伸弥：ES 細胞の増殖を支えるシグナル伝達 日本分子生物学会 第 4 回春季シンポジウム(2004.5.19. 奈良)

山中伸弥：ES 細胞特異的遺伝子群 ECAT を利用した多能性幹細胞の選択 第 2 回幹細胞シンポジウム(2004.4.26. 東京)

山中伸弥：マウス ES 細胞における自己複製の分子機構 Aging Science Forum(2004.4.10. 東京)

山中伸弥：ES 細胞における初期化因子の探索：真に医学応用できる多能性幹細胞の樹立を目指して 21 世プログラム 第 1 回若手シンポジウム「環境応答の分子機構とバイオ機能の高度利用(2004.3.5. 栃木)

山中伸弥：Upstream and Downstream Regulators of Nanog and ERas, Two Important Molecules in ES Cell Biology Keystone Symposium : Stem Cells(2004.1.24. USA)

山中伸弥：ERas and its downstream effectors in ES cell proliferation 21 century COE program, 2nd international symposium The Molecular Network in Cellular Signal Transduction and Environment Response(2004.1.20. 奈良)

村上未玲, 原賢太, 一阪朋子, 米澤一仁, 山中伸弥：mTOR is essential for Proliferation and Growth in Early Mouse Embryos and Embryonic Stem Cells. 21 century COE program, 2nd international symposium The Molecular Network in Cellular Signal Transduction and Environment Response(2004.1.20. 奈良)

---

## 再生増殖制御学分野 Department of Growth Regulation

分野主任 教授 瀬原(藤沢)淳子  
Prof. Atsuko Sehara(Fujisawa)

### 【研究概要】

多細胞生物の個体としての調和した成長は、それら細胞間の接着やシグナルのやりとりなどの相互作用に依存している。私達の研究グループは、発生や形態形成にかかわるそれら細胞間相互作用の分子実体を解明することをひとつの大きな目標としている。その解明はさまざまな疾病の理解と治療の基盤をなすものである。

現在特に私達が着目するのは、ADAM ファミリーと呼ぶ、プロテアーゼおよびディスインテグリンドメインと

いう2つの特徴的ドメインを有する膜蛋白質の、発生・形態形成における役割である。細胞の増殖や分化にはさまざまな可溶性因子がはたらいているのであるが、これらの可溶性因子の活性制御のひとつのメカニズムと考えられているのが、膜型増殖因子の細胞外ドメインをプロテアーゼによって切断することにより可溶性因子を産生する、いわゆる **ectodomain shedding** の機構である。ADAM に属するプロテアーゼは、そのような制御を担う分子群のひとつであることがわかってきているのだ。TACE/ADAM17 やクズバニアン/ADAM10 のメタロプロテアーゼは TGF- $\alpha$  などの膜型増殖・分化因子、Notch リガンドや Notch 自身などの膜型シグナル分子の **ectodomain shedding** にかかわることが報告されてきた。この **ectodomain shedding** という現象は以前から知られているものの、それが細胞間シグナリングの中でどのような位置づけを担っているのか、また形態形成においてはどのような役割を果たしているのかは未だに解明されていない。細胞間シグナリングや形態形成における ADAM の役割を探ることは、それらの問題を解明する上できわめて大切であると言える。

私達は、世界に先駆けてこのファミリーに属する遺伝子群メルトリン  $\alpha$ /ADAM12,  $\beta$ /ADAM19,  $\gamma$ /ADAM9 をクローニングし、その機能や形態形成におけるこれらの遺伝子の役割を検討してきた。まず、遺伝子ノックアウト (KO) マウスを作成することによって、メルトリン  $\alpha$  は褐色脂肪組織とそのまわりの骨格筋形成に関わることを、メルトリン  $\beta$  は心臓の弁や心室中隔を形成する心内膜細胞の増殖や分化にかかわることを示した。そして、これらメルトリン  $\alpha$ ,  $\beta$  が膜型増殖因子ニューレグリン (別名グリア増殖因子) や HB-EGF などの ErbB リガンドの細胞外ドメインの切断に関わることを、同時にこれら膜型 ErbB リガンドを切断するプロテアーゼには複数あることもわかり、**ectodomain shedding** に潜む複雑な制御機構が浮かび上がってきた。

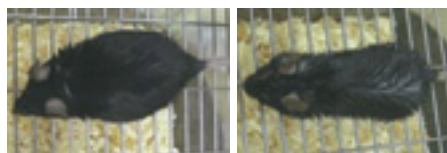
メルトリン  $\beta$  の機能や役割に関しては昨年度の年報を読んでいただくことにして、本年度は、メルトリン  $\alpha$  の驚くべき役割を紹介したい。先に述べたように、発生過程においてメルトリン  $\alpha$  は骨格筋形成や褐色脂肪形成に関わる。骨格筋・脂肪細胞は、ともに中胚葉由来間葉幹細胞から生じ、多くの場合隣接して組織を形成することから、メルトリン  $\alpha$  はこれらの細胞分化や組織形成に共通した機能を果たしているのではないかと考えられた。では、メルトリン  $\alpha$  は、肥満にも関わっているのだろうか？成体まで生き延びるメルトリン  $\alpha$  KO マウスの白色脂肪組織の形成は正常である。しかし、マウスに脂肪食を与える、という負荷をかけたときの脂肪組織の発達は、メルトリン  $\alpha$  に依存するのではないかと？

答えは YES である。当研究室大学院生の正木めぐみは、生き延びたメルトリン  $\alpha$  KO マウスは高脂肪食で誘導される肥満に「マイルドな抵抗性」を示す、つまりこのマウスが「太りにくい」ことを示し、

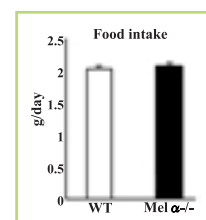
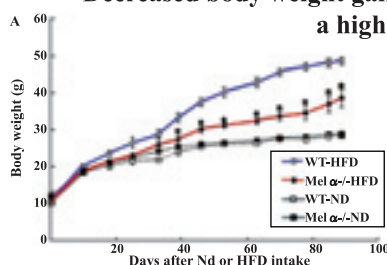
メルトリン  $\alpha$  が病的な白色脂肪組織の発達に関わることを証明したのである (Masaki M et al., *Endocrinology*, in press)。

肥満は、一つ一つの脂肪細胞が脂肪滴をためて膨らむことと、脂肪細胞の数が増えることの両方によって脂肪組織が増大する現象である。面白いことに、メルトリン  $\alpha$  KO マウスでは高脂肪食摂取によって脂肪細胞は大きくなるが、脂肪細胞の増加があまり見られないことが見いだされた。さらに、脂肪組織中に含まれる未分化な間葉細胞や、胎児繊維芽細胞(これ

### Meltrin $\alpha$ plays a role in a high fat diet-induced obesity!



Decreased body weight gain of Meltrin alpha  $-/-$  mice on a high fat diet



も脂肪細胞に分化することができる間葉細胞)を培養すると、メルトリン $\alpha$  KO細胞では脂肪分化にともなう細胞増殖能力が低いことがわかり、メルトリン $\alpha$ は肥満における脂肪前駆細胞の増殖に関与することが示唆された。

肥満に関わるプロテアーゼの発見は、肥満の予防や治療応用への新たな道を開くことになることから、これはきわめて貴重な発見である。また ADAM ファミリープロテアーゼが、細胞分化や形態形成のみならず成体においても活性化され、シグナル分子のチューニングを行うことによって肥満のような高次生命現象に寄与することを示した学問的意義は大きい。私たちのからだに備える細胞増殖能力は様々な組織の維持や再生に有効であるが、その能力は必ずしも「好ましい方向」に働くわけではなくて、肥満のように悪しき増殖もある。今後それらを制御するためには、ADAM がどのような機構で活性化されるのかを探っていくことが大切であろう。

(English)

Coordinated development of multi-cellular organisms depends on intercellular communications and adhesions. Our research has been focused on regulatory mechanisms of such cell-cell interactions during development. Numerous intercellular signaling molecules are generated as membrane-anchored proteins, and they are subjected to proteolytic processing to liberate their extracellular domains (ectodomain shedding). Molecular bases that regulate the ectodomain shedding processes are coming into focus. Evidence suggests that ADAM family proteases are involved in the ectodomain shedding of various membrane proteins. We are currently studying roles of ADAM proteases in development or diseases, which will clarify physiological significance of ectodomain shedding, mediated by ADAM proteases.

We reported previously that during embryogenesis some Meltrin  $\alpha$   $-/-$  mice display impaired development of interscapular brown adipose tissue (BAT) and of the skeletal muscles that surround BAT. In contrast, decreased formation of white adipose tissue (WAT) was not as prominent as that of BAT and recovered after birth. To determine whether Meltrin  $\alpha$  plays direct roles in WAT development, we examined the effect of Meltrin  $\alpha$  deficiency on adipogenesis in adult. We could demonstrate that Meltrin  $\alpha$  is involved in obesity, pathological development of WAT. Compared with wild-type mice, Meltrin  $\alpha$   $-/-$  mice displayed moderate resistance to weight gain induced by a high-fat diet because of an impaired increase in the number of adipocytes. There was no obvious difference in adipocyte size between wild-type and Meltrin  $\alpha$   $-/-$  mice, suggesting normal maturation of adipocytes of the latter under a high-fat diet. Embryonic fibroblasts and the stromal-vascular cells lacking Meltrin  $\alpha$  exhibited impaired cell proliferation upon adipogenic stimulation, which was accompanied by moderate defects in adipose differentiation. These results uncover the involvement of Meltrin  $\alpha$  in the development of obesity and in adipogenic cell proliferation. Further studies will reveal substrates of Meltrin  $\alpha$  protease during induction of obesity and molecular mechanisms that modulate activity of Meltrin  $\alpha$  protease.

## 【業績目録】

### ◆ 誌上発表 ◆

#### 1) 原著論文

Watabe-Uchida, M., Masuda, A., Shimada, N., Endo, M., Shimamura, K., Yasuda, K., and Sehara-Fujisawa A. Novel Metalloprotease-Disintegrin, Meltrin  $\epsilon$  (ADAM35), Expressed in Epithelial Tissues during Chick Embryogene-

sis. *Dev. Dynamics*, 2004 ; 230 : 557-568

Wakatsuki, S., Kurisaki, T., Sehara-Fujisawa, A. Lipid rafts identified as locations of ectodomain shedding mediated Meltrin  $\beta$ /ADAM19. *J. Neurochemistry*, 2004 ; 89(1) : 119-23

Kurohara, K., Komatsu, K., Kurisaki, T., Masuda, A., Irie, N., Asano, M., Sudo, K., Nabeshima, Y., Iwakura, Y., and Sehara-Fujisawa, A. Essential Roles of Meltrin  $\beta$ /ADAM19 in Heart Development. *Developmental Biol.* 2004 ; 267 : 14-28

## 2) 著書および総説

若月修二, 瀬原淳子 : ADAM ファミリーとその機能, 実験医学増刊号「タンパク質修飾・分解の新機能に迫る」(田中啓二, 西道隆臣, 編集), 羊土社(東京)22(2)pp. 125-130(2004)

---

## ◆ 学会等の発表 ◆

### 1) 学会・研究会発表

瀬原淳子 : 形態形成における ADAM プロテアーゼの役割と機能, 第 9 回病態と治療におけるプロテアーゼとインヒビター研究会(2004.7.31. 名古屋)

正木めぐみ, 栗崎知浩, 瀬原淳子 : Meltrin  $\alpha$  の脂肪細胞分化における機能の解析, 第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12.9. 神戸)

正木めぐみ, 栗崎知浩, 若月修二, 小松紘司, 湯本法弘, 増田亜紀, 東利圭, 横関智一, 黒原一人, 富田幸子, 瀬原(藤沢)淳子 : 細胞増殖・分化における ADAM プロテアーゼの役割, 第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12.9. 神戸)

### 2) 講演・シンポジウム

Kazuto Kurohara, Kouji Komatsu, Tomohiro Kurisaki, Aki Masuda, Naoki Irie, and Atsuko Sehara-Fujisawa : Essential roles of Meltrin  $\beta$  (ADAM19) in endocardial cushion development, 2004 Keystone Symposia(2004.3.10. USA)

瀬原淳子 : 細胞増殖・分化制御における ADAM プロテアーゼ, メルトリンの役割, 平成 16 年度特定領域研究・第 5 回公開シンポジウム「蛋白質分解: 新たな展開をめざして」(2004.9.3. 北海道)

Atsuko Sehara : Roles of ADAM proteases in Morphogenesis, Joint Forum IFMS(京大再生研), IMEG(熊大発生研), CDB(2004.11.22. 神戸)

瀬原淳子 : 形態形成における ADAM プロテアーゼの役割, 京都大学再生医科学研究所平成 16 年度学術講演会(2004.12.17. 京都)

## 再生免疫学分野 Department of Immunology

分野主任 助教授 喜納 辰夫

Assoc. Prof. Tatsuo Kina

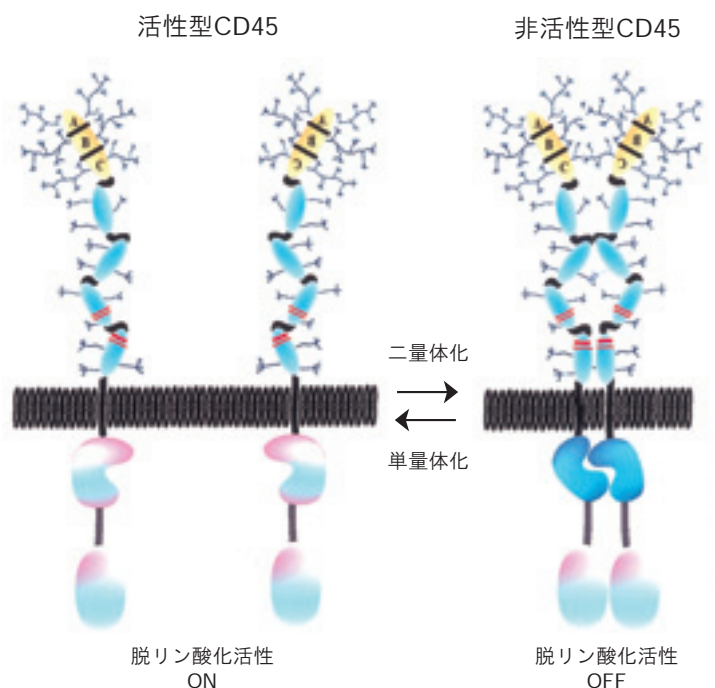
### 【研究概要】

本研究分野では現在、2つの主要なテーマについて研究を行っている。一つは、アトピー性皮膚炎や感染性の結膜炎・中耳炎を発症するアレルギーモデルマウスとして我々が樹立した **BALB/c.CD45.1** コンジェニックマウスについての研究であり、このモデルマウスにおけるアレルギー発症の原因を分子レベルで解明して治療モデルを確立することを目的としている。二つ目は、胎仔胸腺内の **T** および **NK** 細胞の共通前駆細胞の分化における転写調節因子 **Id2** の役割について、独自の手法を用いて細胞レベルおよび分子レベルにおいて解明することである。

#### 1. アレルギー発症モデルマウス BALB/c.CD45.1 におけるアレルギー発症機構

**CD45** は、造血系細胞に特異的に発現されるマーカーであるが、その生化学的活性として、リン酸化チロシン特異的な脱リン酸化酵素活性を有することが知られる。**CD45** の主要な役割として、**Src** 型チロシンキナーゼを脱リン酸化を通してその活性を正・負の方向に調節することにより、生体防御反応におけるシグナル伝達の調節や感染・炎症におけるマクロファージや顆粒球などの活性を制御することが上げられる。ヒトにおいては、**CD45** の突然変異や欠失が重篤な免疫不全症を惹起する例や、細菌感染における抵抗性の低下、多発性硬化症の発症などに関与することが報告され、生体防御機構における新たな役割が注目されている。我々が樹立した **BALB/c.CD45.1** コンジェニックマウスは、通常の

**BALB/c** マウス(**CD45.2**)と比較して、その **CD45** 分子の細胞膜外部位にわずかに5個のアミノ酸の違いが存在するのみであるが、生後半年以降、高頻度で頭部や背部の皮膚炎、目や耳にアレルギー性の炎症を発症する。通常の **BALB/c** マウスではこのような現象は認められず、**CD45** のアロタイプの違いによって免疫系の調節機構に異常が生じる可能性を示すユニークなモデルである。これまでの解析から、**CD45.1** マウスでは、(1)血中 **IgE** の増加、(2)**Th2** 型サイトカインの産生亢進、(3)**B** 細胞の **LPS** 反応性の異常、(4)抗原刺激後の **Jak3/Stat6** のリン酸化異常、(5)**Ig** クラススイッチに関連する **AID** や **IgE germline message** の発現亢進、などの現象が認められ、**CD45.1** マウスが環境



**CD45.1** の活性調節のモデル。CD45 は単量体で存在するとき活性が ON、二量体化により OFF となる。CD45.1 は、フィブロネクチンⅢ領域の5個のアミノ酸(赤線の部分に相当する)に変異があり、それによる立体構造の変化が二量体形成を引き起こしやすくなる。



因子に対して過剰に反応してアレルギーを発症していること、また、発症の原因が **CD45.1** の脱リン酸化活性の低下によるリンパ球活性化の調節異常によって引き起こされていることを示している(図参照)。**CD45.1** 分子における脱リン酸化活性の低下の原因を分子レベルで明らかにするとともに、最新の分子創薬の手法を用いた副作用の少ないアレルギー治療法の開発を目指したい。

## 2. マウス胎仔胸腺における T/NK 共通前駆細胞の分化機構

免疫応答に重要な役割を果たしている **T** 細胞と **NK** 細胞は一部共通の機能を有している。また、マウス胎仔胸腺(FT)には **T/NK** 共通前駆細胞が存在していることを **single cell assay** でこれまでに明らかにした。さらにわれわれは、1 個の胸腺前駆細胞に遺伝子を導入し、その細胞を分化・増殖させる培養系の開発に成功した。本年度はこの培養系を用い、**T/NK** 共通前駆細胞から **NK** 細胞への系列決定に関与していると考えられている **Id2** を **FT CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD44<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD122<sup>+</sup>single cells** に過剰発現させ、系列決定に及ぼす影響を **single cell level** から解析した。**Id2** は転写活性化因子 **E** 蛋白の機能を阻害する因子である。その結果、以下のことを示すデータが得られた。1. **T** 前駆細胞で **Id2** が発現し続けると、**T** 前駆細胞由来の一部の細胞は **NK** へと運命変換し、別の一部は死に、 $\alpha\beta$ **T** 細胞はまったく出現してこない。2. **T** 前駆細胞で一過性に **Id2** が発現すると、**NK** 細胞、**TCR $\beta$**  遺伝子を再構成した **NK** 細胞そして **T** 細胞が出現する。またさらに、FT に存在する **NK** 細胞の一部において **TCR $\beta$**  遺伝子再構成が開始されていることも見出した。以上のことを総合すると、**in vivo** で **T** 細胞へ系列決定している前駆細胞といえども、**NK** 細胞をつくりだすポテンシャルを保持していること、そして、 $\alpha\beta$ **TCR** を発現する段階までに **T** 細胞が分化するには **E** 蛋白が持続的に必要であることが明らかになった。

Our research project consists of two major areas. The first is the molecular mechanisms of inflammatory diseases of BALB/c.CD45.1 congenic mice, in which symptoms of atopic dermatitis, conjunctivitis and tympanitis are spontaneously developed after 6 months of age. Our goal is to develop new effective cures for these diseases using the latest RNA technology. The second major line of investigation is directed towards elucidation of the role of transcription factor **Id2** in the differentiation of **T/NK** common precursors in the fetal thymus.

### (1) Molecular mechanism of allergic inflammation in BALB/c.CD45.1 congenic mice

**CD45** is a leukocyte-specific glycoprotein with tyrosine phosphatase activity. Through dephosphorylating src-family kinases with its tyrosine-specific phosphatase activity, **CD45** plays essential roles in both positive and negative regulation of **T** and **B** lymphocyte activation in immune responses to foreign antigens. **CD45** is also shown to be participated in the regulation of macrophage/granulocyte functions in various infectious and inflammatory diseases. In humans, it has recently been shown that minor mutations or deletions in the extracellular domain of **CD45** resulted in severe combined immunodeficiency or multiple sclerosis, suggesting that **CD45** is involved in various aspects of human diseases. The BALB/c.CD45.1 congenic mice, which have only 5 amino-acid substitutions in the extracellular domain of **CD45** molecules as compared to normal BALB/c mice possessing **CD45.2** allotype frequently developed various inflammatory diseases such as atopic dermatitis, conjunctivitis and tympanitis after 6 months of age. Immune disorders of BALB/c.CD45.1 mice include (1) hyper IgE syndrome, (2) over-production of **Th2** cytokines, (3) hyper LPS reactivity, (4) enhanced phosphorylation of **Jak3/Stat6** after antigen stimulation, (5) elevated level of **AID** expression and germline IgE messages. These results suggest that the tyrosine phosphatase activity of **CD45.1** molecules is significantly lower than that of **CD45.2** molecules and this defective activity of **CD45.1** causes hyper-responsiveness to environmental antigens in BALB/c.CD45.1 mice. In addition to investigate the molecular mechanisms of inflammatory dis-

eases, we are aiming to establish effective cures for these diseases by introducing the latest molecular technologies.

## (2) Role of transcription factor Id2 in the differentiation of T/NK common precursors.

T and NK cells share a series of functional activities in immune responses. Using a novel single cell assay system, we have previously shown that common progenitors producing both T and NK cells (p-T/NK) exist in murine fetal thymus (FT). We have also established a culture system that enables to transduce single thymic progenitors and support T and NK cell development. In this study, we examined the effects of overexpressing Id2 in FT  $CD4^+CD8^+CD44^+CD25^-CD122^-$  single cells on the cell fate. Expression of Id2, an inhibitor of transcription factors E proteins (HEB, E2-2, and E2A gene products, E12 and E47) is closely related to the NK lineage commitment from p-T/NK in FT. As results, we obtained data indicating that a part of progeny of single p-T (progenitors for T cells) are converted to NK lineage cells and another part cannot survive with constitutive Id2 expression, and that with transient Id2 expression, NK cells and NK cells with rearranged  $TCR\beta$  gene as well as T cells are generated from a p-T. Additionally, we found that  $TCR\beta$  gene rearrangement had been initiated in a small portion of fetal thymic NK cells. Taken all together, we have revealed that p-T in FT have a potential to yield NK cells, and that E proteins are continuously necessary for the development of  $\alpha\beta$ TCR expressing T cells.

## 【業績目録】

### ◆ 誌上発表 ◆

#### 1) 原著論文

喜納辰夫：BALB/c.CD45.1 congenic マウスにおける炎症と免疫異常。アレルギー科，**18**：181-188(2004)。

### ◆ 学会等の発表 ◆

#### 1) 学会・研究会発表

喜納辰夫，折橋 郁，藤本真慈：BALB/c.CD45.1 マウスにおける B 細胞活性化調節機構の異常。第 34 回日本免疫学会学術集会(2004.12.3. 札幌)

折橋 郁，藤本真慈，喜納辰夫：BALB/c.CD45.1 マウスにおける免疫異常の分子機構。第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12.8. 神戸)

藤本真慈，喜納辰夫，柿沼志津子，島田義也：X 線照射で誘発したマウス胸腺リンパ腫における  $TCR\beta$  rearrangement. Kyoto T Cell Conference. 第 14 回集会(2004.6.4. 京都)

藤本真慈，喜納辰夫，横田義史：マウス胎仔胸腺における T/NK 共通前駆細胞と T 前駆細胞，NK 前駆細胞の関係ならびに HLH 因子 Id2 の役割。第 34 回日本免疫学会学術集会(2004.12.1. 札幌)

藤本真慈，柿沼志津子，島田義也，喜納辰夫：X 線照射で誘発したマウス胸腺リンパ腫における  $TCR\beta$  locus genotype. 第 27 回日本分子生物学会年会(2004.12.8. 神戸)

## 再生医学応用研究部門

### 組織再生応用分野 Department of Tissue Regeneration

分野主任 教授 戸口田 淳也

*Prof. Junya Toguchida*

#### 【研究概要】

本研究分野の目標は間葉系組織の増殖分化機構を理解し、その成果にもとづいて、間葉系組織の臨床病態に対する新規治療法を開発することである。以下のテーマに基づいて現在研究を遂行している。

#### 1. 間葉系幹細胞の増殖、分化及び癌化機構の解明

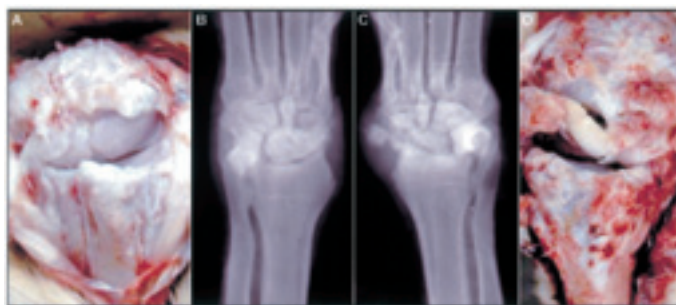
骨髄間質細胞中には、間葉系組織の様々な細胞に分化可能な組織幹細胞である間葉系幹細胞(**mesenchymal stem cell, MSC**)が存在しているとされている。MSC に関しては未だ未解明な点が多く、MSC を用いた間葉系組織の再生医療の基盤となる、MSC の生物学的特質を解析している。具体的目標としては、特異的細胞表面マーカーの単離とそれを用いた選択的増殖法の開発、標識 MSC を用いた *in vivo* でのホーミング機構の解明、各種間葉系組織形成における寄与度の解析などである。また MSC は間葉系組織由来の腫瘍、すわなり肉腫の起源細胞でもあり、*ex vivo* での増殖過程における突然変異の発生を考慮すると、その癌化機構の解析は重要な課題である。我々は MSC にテロメラーゼ遺伝子とヒトパピローマウィルス 16 型 E6 及び E7 遺伝子を導入して不死化 MSC を樹立し、更に活性型 H-ras 遺伝子を導入して癌化 MSC を作成し、その分化能を解析している。

#### 2. 分化決定におけるクロマチン構造修飾の決定機構の解明

MSC から成熟間葉系細胞へ至る道筋が、どのようなものであるのかは明らかでなく、またその可塑性についても不明である。軟骨特異的遺伝子であるコンドロモデュリン-I(**Chondromodulin-I, ChM-I**)遺伝子の骨系細胞における発現抑制機構を解析したところ、転写調節領域が広範にメチル化を受けており、特に転写因子 Sp3 結合部位でのメチル化の有無が発現を制御していることが判明した。ChM-I 遺伝子以外の軟骨関連遺伝子も同様な制御を受けているものがあり、骨と軟骨という類似した細胞の最終決定機構にクロマチン構造の修飾が重要であることが判明した。このように特定の分化方向に関連した遺伝子群に共通して、ヒストンアセチル化を含むクロマチン構造を決定している因子を前述した不死化 MSC のクローナルな解析により単離同定することを試みている。

#### 3. MSC を用いた難治性病変への新規治療法の開発

MSC を用いた再生医療の具体例として、難治性骨壊死病変の一つである月状骨無腐性壊死(キーンバック病)を想定して動物実験を行っている。イヌの月状舟状骨を液体窒素処理により壊死骨モデルを作成した後、予め採



MSC を用いた犬月状舟状骨の再生実験。左右の月状舟状骨の内部海綿骨を搔爬、更に液体窒素処理を加えた。6ヶ月後、MSC を人工骨( $\beta$ -TCP)と共に充填した側は変形なく形状が維持されている(A 及び B)、加えなかった側は著しい圧潰変形を認めている(C 及び D)。

取し培養増殖させ、ウィルスベクターを用いて標識しておいた自家 MSC を人工骨材料と混合した上で、壊死部に充填し、骨組織再生を計った。コントロールでは経時的に圧潰が進行したのに対し MSC を用いたものは変形なく骨組織が再生された(図参照)。更に広範な長管骨欠損に対する応用、靱帯骨移行部の再建に対する応用等の研究が進行中である。

#### 4. 関節軟骨再生に対するプロスタノイド受容体作動性物質の応用

細胞を用いた再生医療と同時に、薬剤等による *in situ* での組織再生の探求も重要な課題である。我々は生理活性物質であるプロスタグランディン E2(PGE2)に注目し、その関節軟骨病態への応用を検討しており、これまでに成人関節軟骨組織において PGF2 受容体のうち EP2 のみが発現しており、EP2 特異的アゴニストにより、軟骨細胞の増殖が促進されることを見出している。現在、*in vivo* の軟骨損傷モデルを作成し、EP2 特異的アゴニストの治療剤としての有効性を検討している。

(文責 戸口田淳也)

The major objects of our department are to understand the molecular mechanism of growth and differentiation of mesenchymal tissues and to develop new therapeutic modalities for pathological conditions in mesenchymal tissues. Following projects are currently investigated.

#### 1. Growth, differentiation, and transformation of mesenchymal stem cells

Mesenchymal stem cells(MSC), which reside among the bone marrow stromal cells, have a potential to differentiate to cells of various types. However, still many important features of MSC are missing, and it is crucial for the development of regeneration therapy using MSC to understand the basic biology of MSC. Projects are ; 1)Identify the cell surface marker specific for MSC, which will be used for the development of selective propagation of MSC. 2)Investigation of the homing mechanisms *in vivo* using the labeled MSC. 3)Investigation of the contribution of MSC to the normal remodeling process of mesenchymal tissue. MSC is supposed to be precursors of malignant tumors of mesenchymal tissues, sarcomas. Considering that *ex vivo* expansion of MSC might induce mutations, it is an important issue to investigate the mechanism of transformation of MSC. We have established immortalized MSC cell lines by sequential retrovirus mediated gene transfer of hTERT and HPV16E6/E7. Further introduction of oncogenicH-ras gene successfully transformed immortalized MSC. Now the differentiation potential of the transformed MSC are being investigated.

#### 2. Involvement of epigenetic mechanism for the regulation of differentiation

How the differentiation potential of MSC is retained during the development and lost after the final differentiation is still unknown. We analyzed the mechanisms of the transcriptional regulation of the ChM-I gene, which is one of cartilage-specific genes. Core-promoter region of the ChM-I gene, especially around the binding site of the main transcription factor, was extensively methylated in osteoblastic cells, and the demethylation agent can induce the expression of the ChM-I gene. Similar mechanisms were also observed in some of other cartilage-related genes, suggesting that modification of chromatin structures is an important factor to determine the differentiation. Using immortalized hMSC clones with different potentials, we are currently trying to identify the factors to determine such “differentiation-specific chromatin structure”.

#### 3. Development of the new treatment for difficult pathological conditions using MSC.

As the example of clinical application of MSC, an animal model of avascular necrosis of lunate bone(Kienbeck disease)is constructed. Canine scapho-lunates are treated with liquid nitrogen to create the necrotic bone, and autologous

MSC, which are *in vivo* expanded and labeled by virus vectors, are applied for the defect of treated scapho-lunates with artificial bone materials. In contrast to the control bone, which showed progressive collapse of bone, MSC-transplanted scapho-lunates showed no deformity and bone tissues are regenerated (see Figure). Reconstruction of the large defect of long tubular bone and reconstruction of tendon-bone interface are also on going.

#### 4. Application of agonist for the PGE2 receptors for the articular cartilage repair.

In addition to the development of cell therapy, it is also important to develop the *in situ* treatment using drugs or small molecular materials. We have focused on prostaglandin E2, which is one of physiological active materials, and investigated the application of PGE2 to the regeneration therapy of articular cartilage. We have found that among four types of PGE2 receptors, only EP2 is strongly expressed in articular cartilage, and the EP2-specific agonist can stimulate the growth of articular cartilage chondrocytes. Therapeutic potentials of the agonist are currently investigated using the defect models *in vivo*.

### 【業績目録】

#### ◆ 誌上発表 ◆

##### 1) 原著論文

- Aoyama, T., Okamoto, T., Nagayama, S., Nishijo, K., Ishibe, T., Yasura, K., Nakayama, T., Nakamura, T., Toguchida, J. Methylation in the core-promoter region of the chondromodulin-I gene determines the cell-specific expression by regulating the binding of transcriptional activator, Sp3. *J. Biol. Chem.*, **279** : 28789-97, 2004.
- Nagayama, S., Iizumi, M., Katagiri, T., Toguchida, J., Nakamura, Y. Identification of PDZK4, a novel gene with PDZ domains, that is upregulated in synovial sarcomas. *Oncogene*, **23** : 5551-7, 2004.
- Nishijo, K., Nakayama, T., Aoyama, T., Okamoto, T., Ishibe, T., Yasura, K., Shima, Y., Shibata, K. R., Tsuboyama, T., Nakamura, T., Toguchida, J. Mutation analysis of the RECQL4 gene in sporadic osteosarcomas. *Int. J. Cancer*, **111** : 367-72, 2004.
- Nakayama, T., Nishino, M., Takasu, K., Hayakawa, K., Toguchida, J., Tanaka, C. Endovascular papillary angioendothelioma (Dabska tumor) of bone. *Orthopedics*, **27** : 327-8, 2004.
- Ochi, K., Nagayama, S., Daigo, Y., Katagiri, T., Tsunoda, T., Myoui, A., Naka, N., Araki, N., Kudawara, I., Ieguchi, M., Toyama, Y., Toguchida, J., Yoshikawa, H., Nakamura, Y. Prediction of response to neoadjuvant chemotherapy for osteosarcoma by gene-expression profiles. *Int. J. Oncology*, **64** : 347-55, 2004.
- Aoyama, T., Okamoto, T., Nagayama, S., Nishijo, K., Ishibe, T., Yasura, K., Tsuboyama, T., Nakayama, T., Nakashima, Y., Nakamura, T., Toguchida, J. Expression of the chondromodulin-I gene in chondrosarcomas. *Cancer Lett.*, **204** : 61-8, 2004.
- Ushio, K., Oka, M., Hyon, S.-H., Hayami, T., Yura, S., Matsumura, K., Toguchida, J., Nakamura, T. Attachment of artificial cartilage to underlying bone. *J. Biomed. Mater. Res., Part B : Appl. Biomater.*, **68B** : 59-68, 2004.
- Imai, T., Adachi, S., Nishijo, K., Ohgushi, M., Okada, M., Yasumi, T., Watanabe, K., Nishikomori, R., Nakayama, T., Yonehara, S., Toguchida, J., Nakahata, T. FR901228 induces tumor regression associated with induction of Fas ligand and activation of Fas signaling in human osteosarcoma cells. *Oncogene*, **22** : 9231-42, 2004.
- 戸口田淳也, 長山聡, 岡本健, 中村孝志, 中村祐輔: 滑膜肉腫の細胞起源. 骨・関節・靱帯 **17** : 145-8, 2004.

戸口田淳也，青山朋樹：臨床応用をめざした間葉系幹細胞の基礎と治療実験．医学のあゆみ **209**：937-41，2004.

中山富貴，戸口田淳也，坪山直生，中村孝志．骨軟部腫瘍における融合遺伝子解析の有用性．中部整災誌 **46**：1065-6，2004.

佐野禎一，中山富貴，中村孝志，坪山直生，戸口田淳也．骨肉腫に対する人工膝関節置換術の成績．中部整災誌 **47**：151-2，2004.

## 2) 総説その他

戸口田淳也：第 36 回日本整形外科学会骨・軟部学術集会 整形外科 **55**：111-3，2004.

## 3) 著 書

戸口田淳也：人工生体材料，43-5(二ノ宮節夫，富士川恭輔，越智隆弘，国分正一，岩谷力編：1. 診断と治療総論，今日の整形外科治療指針，第 5 版，医学書院，東京)，2004.

戸口田淳也：悪性骨・軟部腫瘍の放射線療法，201-3(二ノ宮節夫，富士川恭輔，越智隆弘，国分正一，岩谷力編：6. 骨・軟部腫瘍および腫瘍類似疾患，今日の整形外科治療指針，第 5 版，医学書院，東京)，2004.

## ◆ 学会等の発表 ◆

### 1) 学会・研究会発表

戸口田淳也：運動器再生医療のための間葉系幹細胞の基礎．第 48 回日本リウマチ学会(2004.4.15. 岡山)

戸口田淳也：遺伝子発現プロファイリングからの滑膜肉腫の分子病理解析．第 93 回日本病理学会(2004.6.11. 札幌)

中山富貴，中村孝志，戸口田淳也，中嶋安彬，坪山直生：神経発生と考えられた腋窩部滑膜肉腫の 1 例．第 400 回京阪神整形外科集談会(2004.6.19. 大阪)

西庄功一，中山富貴，青山朋樹，岡本健，西庄功一，石部達也，安良興，嶋靖子，柴田弘太郎，坪山直生，中村孝志，戸口田淳也：骨肉腫における RECQL4 遺伝子の変異解析．第 37 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2004.7.15. 東京)

嶋靖子，岡本健，石部達也，青山朋樹，西庄功一，安良興，嶋靖子，柴田弘太郎，中山富貴，中村孝志，清野透，戸口田淳也：骨髄間葉系幹細胞の癌化機構の解析．第 37 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2004.7.15. 東京)

岡本健，長山聡，青山朋樹，西庄功一，石部達也，中山富貴，中村祐輔，中村孝志，戸口田淳也：滑膜肉腫における融合遺伝子 SYT-SSX の機能：下流遺伝子の同定と機能解析．第 37 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2004.7.15. 東京)

石部達也，中山富貴，岡本健，長山聡，青山朋樹，西庄功一，安良興，柴田弘太郎，嶋靖子，中村孝志，戸口田淳也：滑膜肉腫の増殖における Fibroblast growth factor シグナルの関与—分子標的としての有用性の検討—．第 37 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2004.7.16. 東京)

中山富貴，坪山直生，戸口田淳也，中村孝志：未分化紡錘・多形細胞肉腫に対する化学療法の有効性．第 37 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2004.7.16. 東京)

戸口田淳也，石部達也，長山聡，中山富貴，片桐豊雅，中村祐輔：骨軟部腫瘍における分子標的治療の開発．第 63

回日本癌学会総会(2004.9.29. 福岡)

福川千香子, 長山聡, 片桐豊雅, 戸口田淳也, 中村祐輔: 滑膜肉腫において高発現する遺伝子 **FZD10** の機能解析およびその抗体の治療への応用. 第 63 回日本癌学会総会(2004.9.29. 福岡)

長山聡, 井元清哉, 片桐豊雅, 中山富貴, 下平英寿, ローレンスミッチェル, 宮野悟, 戸口田淳也, 中村祐輔: 遺伝子発現プロファイルに基づいた軟部肉腫の分子生物学的新分類の構築. 第 63 回日本癌学会総会(2004.9.29. 福岡)

嶋靖子, 岡本健, 青山朋樹, 西庄功一, 石部達也, 柴田弘太郎, 中山富貴, 中村孝志: 骨髄間葉系幹細胞の癌化機構の解析. 第 63 回日本癌学会総会(2004.9.29. 福岡)

西庄功一, 中山富貴, 青山朋樹, 石部達也, 嶋靖子, 柴田弘太郎, 坪山直生, 中村孝志, 戸口田淳也: 骨肉腫における **RECQL4** 遺伝子の変異解析. 第 63 回日本癌学会総会(2004.9.29. 福岡)

石部達也, 中山富貴, 岡本健, 長山聡, 青山朋樹, 西庄功一, 柴田弘太郎, ロバーツ, 嶋靖子, 中村孝志, 戸口田淳也: 治療標的分子としての滑膜肉腫における **FGF** シグナル伝達系. 第 63 回日本癌学会総会(2004.9.29. 福岡)

戸口田淳也, 西庄功一, 長山聡, 中山富貴, 中村孝志: 遺伝子発現プロファイリングによる肉腫における病態進行関連遺伝子の探索. 第 19 回日本整形外科学会基礎学術集会(2004.10.21. 東京)

青山朋樹, 梁伯堅, 松崎尚志, 安良興, 中村孝志, 戸口田淳也: **PGE2** は **EP2** リセプターを介して関節軟骨の増殖を促進する. 第 19 回日本整形外科学会基礎学術集会(2004.10.21. 東京)

嶋靖子, 岡本健, 石部達也, 中村孝志, 清野透, 戸口田淳也: 間葉系幹細胞の癌化機構の解析. 第 19 回日本整形外科学会基礎学術集会(2004.10.22. 東京)

石部達也, 中山富貴, 岡本健, 長山聡, 中村孝志, 戸口田淳也: 滑膜肉腫における神経組織関連遺伝子の発現とレチノイン酸による分化誘導. 第 19 回日本整形外科学会基礎学術集会(2004.10.22. 東京)

中山富貴, 坪山直生, 戸口田淳也, 宮崎真紀, 平松英文, 水嶋康浩, 松原央, 小林道弘, 足立壮一, 中畑龍俊, 中村孝志: 四肢骨肉腫に対する **VP-16** を併用した化学療法の治療成績. 第 42 回日本癌治療学会(2004.10.27. 京都)

足立壮一, 今井剛, 渡部基信, 松原央, 水嶋康浩, 西庄功一, 中山富貴, 木村晋也, 戸口田淳也, 中畑龍俊: 肉腫に対する新規治療. 第 42 回日本癌治療学会(2004.10.27. 京都)

Toguchida, J., Nagayama, S., Imoto, S., Nakayama, T., Nishijo, K., Ishibe, T., Shima, Y., Nakamura, T., Katagiri, T., Nakamura, Y.: Molecular signatures for malignant profiles of spindle cell sarcomas of soft part. 10th CTOS (2004.11.12. Montreal)

Shima, Y., Okamoto, T., Ishibe, T., Nishijo, K., Aoyama, T., Nakayama, T., Nakamura, T., Toguchida, J. Transformation of mesenchymal stem cell by the retrovirus-mediated gene transfer. 10th CTOS (2004.11.13. Montreal)

Ishibe, T., Nakayama, T., Okamoto, T., Aoyama, T., Nishijo, K., Nagayama, S., Nakamura, T., Toguchida, J.: Fibroblast growth factor signals as a potent molecular targets in synovial sarcoma. 10th CTOS (2004.11.13. Montreal)

## 2) 講演・シンポジウム

戸口田淳也: 生活習慣病と再生医療: 骨軟骨疾患を対象として. 近畿保健所長会連絡協議会(2004.2.13. 京都)

戸口田淳也: 腫瘍整形外科と再生医学 —二兎と追う者, 一兎も得ずか— 第 25 回伊藤近藤メモリアルレクチャー(2004.3.13. 京都)

戸口田淳也：間葉系幹細胞に対する期待と疑問．第 9 回広島整形外科先端医学セミナー(2004.6.23. 広島)

戸口田淳也：骨軟部腫瘍の診断治療におけるヒトゲノム情報の応用．第 137 回静岡県整形外科医会集談会(2004.7.5. 静岡)

戸口田淳也：トランスクリプトーム解析から診断治療へ～軟部肉腫をモデルとして～，第 21 回福岡がん懇話会(2004.11.19. 福岡)

---

## 器官形成応用分野 Department of Organ Reconstruction

助教授 角 昭一郎

Assoc. Prof. Shoichiro Sumi

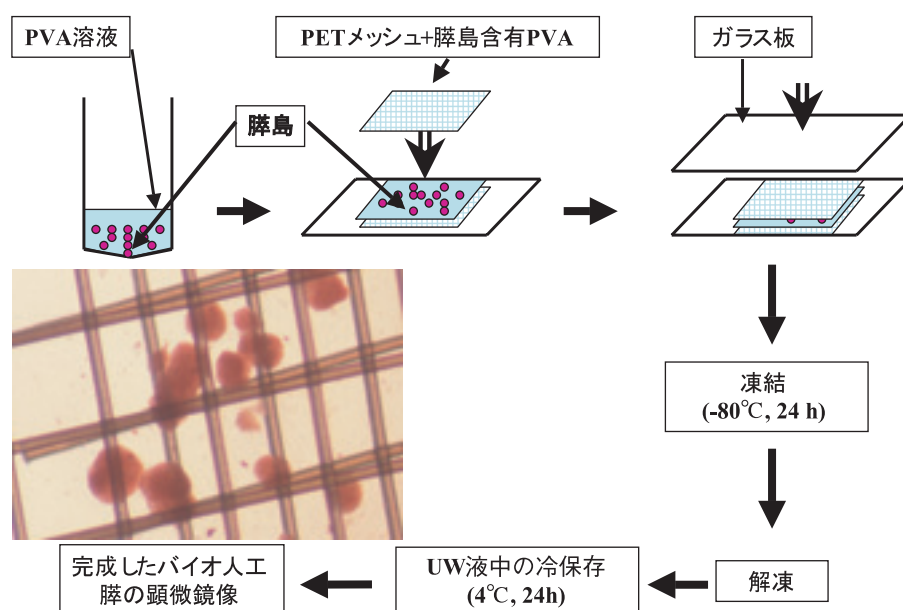
### 【研究概要】

本分野では、膵 **Langerhans** 島(膵島)の再生医療を中心的な研究テーマとしており、全世界で増加している糖尿病に対して、希望すればいつでも受けられる安全で根本的な治療法の開発を目指して研究を行っている。世界的に重症糖尿病治療は大部分インスリン補充療法に依存しているが、欧米では膵臓移植や膵島移植が着実に増加してきた。わが国では、1997 年の臓器移植法制定以降、約 20 例の膵臓移植が行われている。また、膵島移植は 2003 年秋に本邦第 1 例目の移植用膵島分離が行われ、2004 年春には我が国初の膵島移植が実施された。さらに、2005 年 1 月には世界初の生体膵島移植が実施されるに至り、大きく遅れていた膵の移植医療がようやく定着してきたものと思われる。しかし、これらの移植医療は、重症糖尿病やその合併症に対処する有効な治療法ではあるものの、移植医療に共通するドナー不足と永続的な免疫抑制療法の問題は避けられず、いつでも受けられる安全な治療法という理想からは大きな隔たりがある。

このような問題の解決をめざす膵島再生医療のアプローチとしては、インスリン産生細胞をどこに求めるかによって、最も直接的に自己の膵臓で膵島再生を促進する方法、自己あるいは他者の組織幹細胞あるいは胚性幹(ES)細胞から膵島様細胞塊を分化誘導する方法、さらに、ヒト以外の異種動物の膵島を分離して利用する方法などが研究されている。このような細胞が治療に応用できるようになれば、ドナー不足の問題は解決するが、自己の細胞に由来する場合以外は全て拒絶反応の対象となるため、免疫抑制が不可欠である。また、対象疾患が自己免疫の関与する 1 型(インスリン依存性)糖尿病であることも考慮すると、膵島や膵島様細胞塊を、免疫隔離能を有する各種の半透膜で包んでバイオ人工膵島とすることで、免疫抑制の副作用からも開放され、前述の理想的な治療法となるものと考えられる。当分野の最大の研究課題は、このようなバイオ人工膵の開発と臨床応用へのアプローチである。

当分野では、分離法が確立しているラット膵島に加えて、ブタ膵内分泌細胞の分離法を確立し、これらを用いて、各種のバイオ人工膵の研究開発を行っている。例えば、生体適合性に優れたポリビニルアルコール(PVA)膜をメッシュ補強して作製したチューブ状あるいはバッグ状のデバイスに膵島やインスリン分泌細胞を封入して移植することで、異種動物の血糖を長期にコントロールできること、アガロースと抗補体作用を有するポリスチレンスルホン酸の混合ゲルにブタ膵内分泌細胞を包埋して棒型バイオ人工膵を作製し、あらかじめ血管誘導処置を施したストレ





凍結法による PVA バイオ人工膵の作製法. Qi MJ, et al. Biomaterials 25 : 5885-5892(2004)より改変

プトゾトシン(STZ)糖尿病マウスの皮下に異種移植することで長期の血糖正常化が達成されることなどを報告してきた。しかし、従来のバイオ人工膵作製法では、イヌなど大型動物や最終的な目標であるヒトに応用可能な大型のバイオ人工膵を作製することは必ずしも容易ではなかった。この点を改良するために、我々は膵島の凍結保存法と、PVAが凍結によって安定したゲル状になることを組み合わせて、全く新しい方法によるバイオ人工膵の作製法を開発した。作製法の概略を図に示すが、まず膵島凍結液で溶解したPVAの溶液に膵島を浮遊させ、これをメッシュで補強してシート状に成形した後、 $-80^{\circ}\text{C}$ で24時間凍結する。この方法によれば、原理的にはどのような面積や厚さを有するバイオ人工膵も作製可能であり、将来の大型化に大きく道を拓く突破口になると考えている。現在までに、このバイオ人工膵を用いてラットからマウスへの異種膵島移植で比較的長期の血糖コントロールが可能である事を示すとともに、この移植が血糖のみならず糖尿病性腎症の進展防止にも有効であることを示している。

その他の関連領域として、バイオ人工膵の皮下移植に応用するために皮下組織への血管新生誘導の研究を行っている。また、長期的な四肢血流障害モデルが確立していないラットにおいて、血管内皮障害性の薬物を用いることで虚血下肢モデルを独自に作製し、血管新生の実験に応用している。また、マウスES細胞を用いた研究では、膵島様細胞塊の誘導をすでに報告しているが、さらにドパミン産生神経細胞の誘導に成功し、これを用いた移植実験において有効性を確認した。2003年度からは、京都大学細胞・生体シミュレーションプロジェクトに参画して、全身糖代謝シミュレータの構築を目指して研究中であり、さらにこれを機械的人工膵臓の制御に応用することを計画している。即ち、従来の人工膵臓はインスリン投与量の決定に比例・微分制御を用いていたが、これに代わって、モデル予測型の制御を行おうとしている。これにより、個人差に対応したより安全で有効な血糖コントロールが得られるものと期待される。

#### Department of Organ Reconstruction

The major object of our research is development of regenerative medicine for diabetes mellitus from which growing number of patients suffering in the world. The goal of our studies is to establish a safe therapy available for every diabetes patient whenever it is required. Therapy for severe diabetes mellitus still depends mostly on insulin injection. In western countries, an increasing number of patients are treated by pancreas organ transplantation and islet trans-

plantation. On the other hand, approx. 20 cases have been treated by pancreas organ transplantation since the enforcement of the transplantation law in 1997 in Japan. As to the islet transplantation in Japan, the first case of islet isolation for clinical use was performed in September 2003 and the first islet transplantation was performed in April 2004. Furthermore, the first islet transplantation from living related donor was recently performed. Therefore, transplantation therapy has finally become a practical option for diabetes in Japan. These transplantation therapies offer a cure of diabetes and diabetic complications. However, donor shortage and complications due to immunosuppressive therapy are inevitable problems as long as allo-transplantation of human organs is employed. Due to these problems, current transplantation therapy is still far from the goal of our studies.

Regenerative medicine of pancreatic islets is studied in order to solve these problems through several different approaches. As to the origin of insulin-secreting cells; enhancement of patient's own islet regeneration, auto- or allogeneic islet-like cells differentiated from somatic or embryonic stem cells *in vitro* and xeno-geneic islets isolated from the pancreas of animals such as pigs. If these cells become clinically usable, donor shortage will be solved. However, if allogeneic cells are used and if you consider that type-1 diabetes is an autoimmune disease even in the situation of autotransplantation, immunosuppression may be still required. To solve this problem, bio-artificial pancreas, in which islet cells are encapsulated by several kinds of semipermeable membrane and protected from host immune responses, is another approach for cure of diabetes mellitus. The most important subject of our research is to develop such a bioartificial pancreas usable in clinical setting.

We have established isolation method of porcine pancreatic endocrine cells in addition to rat islets. Using these islets, we have successfully shown the efficacy of several macrodevices of bioartificial pancreas such as mesh-reinforced polyvinyl alcohol (PVA) tube and bag, rod-shaped device of agarose containing anti-complement substance, and so on in allo- and xeno-geneic situations. In these experiments, we realized a difficulty in making bigger devices to be used for dogs and potentially for humans. We recently developed a novel method to make sheet type macrodevices of PVA gel by freezing and thawing. This method is based on two facts that islet can be stored by freezing and that PVA solution becomes a gel by freezing and thawing. The method is shown in the figure. By this method, we can make bigger device as required with ease. We have also shown that this device is effective in xeno-transplantation.

We are also doing other related researches. For example, we are studying several methods to induce neovascularization to ischemic tissues, developing novel methods to make ischemic lower limb model in rats. We have made dopaminergic neuron-like cells from mouse ES cells and showed a effect of these cells when transplanted into the brain of Parkinsonism model rat. In addition, we have recently started a study to establish a simulator of systemic glucose metabolism as one of the member of the bio-simulation project, Kyoto University. We are planning to use this simulator to control mechanical pancreas that are currently controlled by proportional-differential method.

## 【業績目録】

### ◆ 誌上発表 ◆

#### 1) 原著論文

角 昭一郎, 井上一知: 膵島十二指腸切除前後の膵内外分泌機能. 胆膵の生理機能 20(1): 27-31, 2004

角 昭一郎, 井上一知: 膵島( $\beta$ 細胞)の再生医学とその臨床応用の可能性—膵再生医学の最前線—. 胆と膵 25(5):

267-272, 2004

角 昭一郎, 古賀まり, 日裏彰人, 井上一知: ES 細胞・骨髄細胞と膵再生医療. 再生医療 3(4): 77-84, 2004

日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知: カプセル化膵島と再生医療—実用化への新しい展開とその将来. 再生医療 3(4): 95-100(2004)

Qi M.J., Gu Y.J., Sakata N., Kim D.H., Shirouzu Y., Yamamoto C., Hiura A., Sumi S., Inoue K.: PVA Hydrogel Sheet Macroencapsulation for the Bioartificial Pancreas. Biomaterials 25: 5885-5892(2004)

Sumi S., Gu Y.J., Hiura A., Inoue K. Stem Cells and Regenerative Medicine for Diabetes Mellitus. Pancreas 29: e85-e89(2004)

Inden M., Kim D.H., Gu Y.J., Kitamura Y., Kondo J., Tsuchiya D., Taniguchi T., Shimohara S., Akaike A., Sumi S., Inoue K.: Pharmacological characteristics of rotational behavior in hemiparkinsonian rats transplanted with mouse embryonic stem cell-derived neurons. J Pharmacol Sci 96: 53-64(2004)

Sakurai T., Satake A., Sumi S., Inoue K., Nagata N., Tabata Y., Miyakoshi J.: The efficient prevascularization induced by fibroblast growth factor 2 with a collagen-coated device improves the cell survival of a bioartificial pancreas. Pancreas 28: e70-e79(2004)

Sakurai T., Satake A., Sumi S., Inoue K., Miyakoshi J.: Extremely low frequency magnetic field affects insulin secretion from insulinoma cell line, RIN-m. BBRC(in press)

2) 著 書

角 昭一郎: 膵嚢胞, 膵癌. 「今日の治療指針 2004」(山口徹ほか編, 医学書院, 東京)p403-405, 2004

角 昭一郎, 井上一知. 人工臓器. 新改訂・表面科学基礎と応用. 5 編人工生体材料の設計・作製および評価. エヌ・ティー・エス, 2004

日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知: 膵島の再生医療. 「糖尿病 2005」(からだの科学 [増刊])(赤沼安夫, 野田光彦 岡編, 日本評論者, 東京)p267-273(2004)

日裏彰人, 井上一知: ホルモンの事典『セクレチン』((株)朝倉書店編集部, 東京)p637-641(2004)

日裏彰人, 井上一知: ホルモンの事典『VIP』((株)朝倉書店編集部, 東京)p645-648(2004)

日裏彰人, 井上一知: ホルモンの事典『CCK』((株)朝倉書店編集部, 東京)p648-654(2004)

3) その他

Ray Jui-Fang Tsai (訳責: 顧元駿, 岳曉樺, 角 昭一郎): 幹細胞と再生医工学. 再生医療 3(2): 98-107, 2004

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

中川典美, 日裏彰人, 漆 智, 秋間通丘, 石塚宣彦, 野木真一, 角 昭一郎, 井上一知: ラット下肢血流障害モデルの作製. 第 3 回日本再生医療学会総会(2004.3.24. 千葉)

漆 智, 中川典美, 日裏彰人, 顧 元駿, 秋間通丘, 石塚宣彦, 野木真一, 角 昭一郎, 井上一知: ニコランジルによる虚血性皮弁壊死の抑制効果. 第 3 回日本再生医療学会総会(2004.3.24. 千葉)

山本ちづる, 坂田直昭, 奇 梅日更, 白水泰昌, 顧 元駿, 角 昭一郎, 井上一知: PVA カプセル化膵島の異種

液性免疫隔離効果. 第3回日本再生医療学会総会(2004.3.25. 千葉)

奇 梅日更, 顧 元駿, 金 度勳, 坂田直昭, 白水泰昌, 日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知: PVAを用いたシート型カプセル化膵島に関する検討. 第3回日本再生医療学会総会(2004.3.25. 千葉)

奇 梅日更, 顧 元駿, 金 度勳, 坂田直昭, 白水泰昌, 山本ちづる, 日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知: PVAを用いたシート型カプセル化膵島に関する検討. 第31回膵・膵島移植研究会(2004.3.27. 岡山)

山本ちづる, 坂田直昭, 奇 梅日更, 白水泰昌, 顧 元駿, 角 昭一郎, 井上一知: ポリビニルアルコールカプセル化膵島における液性免疫隔離効果の研究. 第31回膵・膵島移植研究会(2004.3.27. 岡山)

坂田直昭, 顧 元駿, 奇 梅日更, 山本ちづる, 日裏彰人, 角 昭一郎, 井上一知, 江川新一, 砂村真琴, 松野正紀: ポリビニルアルコール(PVA)カプセル化膵島の異種移植効果—糖尿病性腎症に対する有効性—. 第31回膵・膵島移植研究会(2004.3.27. 岡山)

日裏彰人, 角昭一郎, 顧 元駿, 奇 梅日更, 金 度勳, 坂田直昭, 白水泰昌, 櫻井智徳, 佐竹 晃, 漆 智, 井上一知: 膵島再生医療の現状と成果. 第29回日本外科系連合学会学術集会・総会(2004.7.2. 東京)

Meirigeng Qi, Yuanjun Gu, Naoaki Sakata, Dohoon Kim, Yasumasa Shirouzu, Chizuru Yamamoto, Akihito Hiura, Shoichiro Sumi, Kazutomo Inoue : PVA hydrogel macroencapsulation for the bioartificial pancreas. 12th Meeting of the International Association of Pancreatology (IAP) (2004.7.13. Sendai)

Meirigeng Qi, Zhi Qi, Mari Koga, Akihito Hiura, Shoichiro Sumi, Kazutomo Inoue : Development of PVA bio-artificial pancreas by freezing method and its evaluation. 第31回日本低温医学会総会 (2004.11.20. 東京)

角 昭一郎, 井上一知, 遠藤真一郎, 北村義則: ラット膵再生に対する膵管結紮と切除の影響に関する研究(第2報). 第21回胆膵生理機能研究会 (2004.3.27. 福岡)

角 昭一郎: 膵島移植班ワーキンググループ報告. 第7回近畿膵移植検討会 (2004.11.13. 大阪)

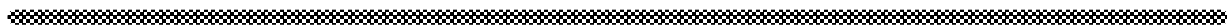
角 昭一郎: バイオ人工膵臓—新しい糖尿病治療への挑戦—. 京大 IIC フェア 2004 (2004.11.10. 京都)

## 2) 講演・シンポジウム

角 昭一郎: 臨床応用可能なバイオ人工膵臓への挑戦 医工学フォーラム—2003年度特別学術講演会—(2004.2. 京都)

日裏彰人: いま, 再生医学はどこを向いているか「福井ライフアカデミー: 現代的課題講座 4 先端科学」(2004.3.6. 福井)

日裏彰人: 糖尿病合併症に対する再生医療の実際「第9回 NPO 再生医療推進センター講演会」(2004.11.20. 福岡)



## 臓器再建応用分野 Department of Bioartificial Organs

分野主任 助教授 中村 達雄

Assoc. Prof. Tatsuo Nakamura

### 【研究概要】

臓器再建応用分野の研究目的は、再生医学を医療に応用することで人間の幸福に貢献することです。これによって、現在治療法がない難病患者、人工臓器で延命中の患者、或いは移植ドナーの不足のために死亡している症例の多くが救われます。また、高騰を続ける医療費が激減することが予想されます。

人間の体には秘められた再生能があります。それを引き出すことで自己の細胞が増殖、分化できる足場となる適切な環境を体内に与えることによって、自己の臓器が本来の構造と機能を取り戻して再生復元するようにする新しい手法を開発しています。研究の方法としては、再生医学の3つの柱である(1)足場、(2)細胞、(3)増殖・成長因子、を生体内で働かせる **in situ Tissue Engineering** という方法を独自に開発してそれを進めています。すなわち、同種・異種の臓器や組織から酵素で分解・抽出して完全に免疫原性をなくしたコラーゲンから再構成した細胞外マトリックス、或いは **Detergent** で細胞を完全に除去した細胞外マトリックス、生体内で分解吸収される合成高分子、増殖因子など **DDS**(薬物送達システム)を組み合わせて、欠落した組織や臓器の再生する足場となる枠組み(細胞外マトリックス)を生体内に作ります。この枠組みを足場として利用して、生体内の幹細胞が増殖、分化し、自己の組織や臓器が再生復元されます。また、幹細胞の分離・増殖を行い組織再生に用いる研究や瘢痕状になった細胞外マトリックスを融かして、再び本来の細胞外マトリックスに戻す研究も進めています。

現在行っている研究内容は下記のように分類されます。

- ①角膜、心膜、胸膜、腹膜、脳硬膜などの膜系
- ②血管、気管、喉頭、消化管などの管状臓器
- ③外力の加わる組織(骨、永久歯、歯根膜)
- ④末梢神経
- ⑤脊髄・大脳などの中枢神経系
- ⑥泌尿器系組織
- ⑦肺臓、肝臓、甲状腺、上皮小体、脾臓などの実質性代謝臓器
- ⑧脂肪組織や筋肉組織や、その他軟組織
- ⑨この他に人工臓器の開発や造影剤の研究、バイオマテリアルの研究

当分野の研究は、細胞が増殖、再分化して、元の臓器を復元させる仕組み(環境)を人工的に体の中に作れば、哺乳動物の臓器や組織もいもりのように再生復元するというメカニズムを医学に応用するものです。このような **in situ**



末梢神経の再生誘導をおこなう人工神経の走査電子顕微鏡写真。生体内分解性高分子材料と生体由来の細胞外基質より構成される。

**Tissue Engineering** は世界に先駆けて我々が提唱してきた方法で既に人工気管や人工神経など臨床に応用されているものもあり、21 世紀の医療の中心的柱になると考えられます。

**In situ Tissue Engineering** : We have devised a completely new approach to the development of artificial organs. The main procedure using tissue engineering for tissues and internal organs involves the removal of the cell component from auto-or allo-organs to obtain only the extracellular matrix, so-called refined extracellular matrix (ECM) and reconstitutes the solid structure from the extracted collagen. This ECM or reconstituted structure is then employed as scaffolding, which after implantation into the patients is used for the regeneration or re-differentiation of tissue. Organs made of self-cells thus regenerate. Organs that regenerate in this manner not only possess highly differentiated tissue structures, but also show functional recovery, because all the cells are derived from the patients themselves. Whether or not our new method is practicable will depend mainly on the intrinsic regeneration capacity of each tissue. Up to now, in higher mammals including man, it has been believed that highly differentiated organs lose their ability to regenerate. We consider that mammals do not, in fact, lose this potential, and that the potential is hidden by excessively rapid wound healing around the failing tissues. In this sense, if we can provide good conditions using refined ECM, we can induce this hidden potential even in higher mammals. We have already carried out successful trials at regenerating peripheral nerves, the esophagus, the trachea, and blood vessels with this method. A similar method is also applicable to other soft tissue organs such as the liver, heart, and lung, as well as the spinal cord. These results will be welcomed by patients who are dependent on palliative life-support systems, or transplantation candidates who are waiting for suitable donors. An additional benefit is that patients will be freed from the side effects of immunosuppressive drugs. The judgment of the brain death can then be discussed separately from the issue of transplantation, and will become a personal problem. Further more, this new approach help to reduce ever-expanding medical costs, which are in danger of destroying our health insurance system in the near future.

No study based on these concepts has ever been done either in Japan or abroad. In this sense, our pioneering work is expected to be a major area of medical science for the coming generation.

#### Strategy and targets of our study

The target organs currently being considered for this development project are the heart, heart valves, esophagus, stomach, intestine, gallbladder, trachea, lung, liver, kidney, peripheral nerves, spinal cord, cornea, tendons, ligaments, cartilage, bone, fatty tissue, periodontal tissue, and permanent teeth. We plan to employ the two major methods as described below.

#### ECM Method

To obtain the purified extracellular matrix, cell components are completely removed from homo or allo-organs. The solid structure is reconstituted from the ECM and extracted collagen. Growth factors are then applied to facilitate cell proliferation. Then this ECM-collagen-growth factor composite is implanted into the living body as a temporary scaffolding for new organ regeneration. Besides this, bioabsorbable materials will also be applied instead of purified ECM as a bulk structure for organ regeneration. Both extracted collagen and growth factors are should facilitate cell proliferation and cell redifferentiation, leading to regeneration of organs completely composed of cells derived from patients.

## Cell+ECM Method

Cells(or living tissues)of patients are complexed(mixed)with purified ECM or bioabsorbable material. Using this complex, reconstruction of the failing tissues or organs will be attempted. Mesenchymal stem cell(MSC)obtained from the bone marrow is now applied to this method.

## 【業績目録】

### ◆ 誌上発表 ◆

#### 1) 原著論文

Nakamura, T., Inada, Y., Fukuda, S., Yoshitani, M., Nakada, A., Itoi, S., Kanemaru, S., Endo, K., Shimizu, Y. : Experimental study on the regeneration of peripheral nerve gaps through a polyglycolic acid-collagen(PGA-collagen) tube. *Brain Research*. **1027** : 18-29(2004)

Nakamura, T. : Regenerative medicine for respiratory diseases. *JMAJ. (Japan Medical Association Journal)* **47** : 333-337(2004)

中村達雄 : 神経誘導管(人工神経). *高分子*. **53** : 154(2004)

中村達雄 : 気管, 食道の再生. *小児外科*. **36** : 1406-1411(2004)

Inada, Y., Morimoto, S., Takakura, Y., Nakamura, T. : Regeneration of peripheral nerve gaps with a polyglycolic acid-collagen tube. *Neurosurgery*. **55** : 640-648(2004)

稲田有史, 清水慶彦, 中村達雄, 金丸眞一, 森本 茂, 山科幸夫, 飯田秀之, 諸井慶七郎, 橋爪圭司, 古家 仁, 細井裕司 : Polyglycolic acid(PGA)-collagen tube による末梢神経損傷への臨床応用. *形成外科*. **47** : 883-891(2004)

稲田有史, 清水慶彦, 中村達雄, 森本 茂, 山科幸夫 : 有連続性上肢神経損傷に対する術中電気生理学的検討と PGA-C tube による生体内再生医療. *日本手の外科学会雑誌*. **21** : s1(2004)

Omori, K., Nakamura, T., Kanemaru, S., Kojima, H., Magrúfov, A., Hiratsuka, Y., Shimizu, Y. : Cricoid regeneration using in situ tissue engineering in canine larynx for the treatment of subglottic stenosis. *Annals of Otolaryngology & Laryngology*. **113** : 623-627(2004)

Okamoto, T., Yamamoto, Y., Gotoh, M., Huang, C.L., Nakamura, T., Shimizu, Y., Tabata, Y., Yokomise, H. : Slow release of bone morphogenetic protein(BMP)-2 from a gelatin sponge promotes regeneration of tracheal cartilage. *J Thorac Cardiovasc Surg*. **127** : 329-34(2004)

Kanemaru, S., Nakamura, T., Omori, K., Magrúfov, A., Yamashita, M., Shimizu, Y., Takahashi, H. and Ito, J. : Regeneration of Mastoid Air Cells : Clinical Applications. *Acta Otolaryngol*. **124(supple551)** : 80-84(2004)

金丸眞一, 中村達雄, Akhmar Magrúfov, 大森孝一, 山下 勝, 平海晴一, 藤野清大, 内藤 泰, 伊藤壽一 : 乳突蜂巣構造の再生-In situ tissue engineering の臨床応用-. *耳鼻臨床*. **97** : 205-210(2004)

金丸眞一 : 頭頸部領域における神経再生医療 頸胸部領域における先端的外科手術. *日気食*. **55** : 135-6(2004)

Kanemaru, S., Nakamura, T., Omori, K., Magrúfov, A., Yamashita, M., Ito, J. : Regeneration of Mastoid Air Cells in Clinical Applications by In Situ Tissue Engineering. *Laryngoscope*. (in press)

Kanemaru, S., Nakamura, T., Omori, K., Magrúfov, A., Yamashita, M., Ito, J. : Functional regeneration of tissue engineered recurrent laryngeal nerve and the mechanism of this process studied on the peroneal nerve. *Ann Otol*

Rhinol Laryngol. (in press)

Kobayashi, E., Nakamura, T., Nakahara, T., Shimizu, Y., Mataga, I. : Experimental study on regeneration of the temporomandibular joint (TMJ) disc using in situ Tissue Engineering. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. **32** : 327 (2004)

Takahashi, M., Nakamura, T., Toba, T., Kajiwar, N., Kato, H., Shimizu, Y. : Transplantation of endothelial progenitor cells into the lung to alleviate pulmonary hypertension in dogs. *Tissue Engineering*. **10** : 771-779 (2004)

Naito, Y., Nakamura, T., Nakagawa, T., Iguchi, F., Endo, T., Fujino, K., Kim, T. -S., Hiratsuka, Y., Tamura, T., Kanemaru, S., Shimizu, Y., Ito, J. : Transplantation of bone marrow stromal cells into the cochlea of chinchillas. *Neuro Report*. **15** : 1-4 (2004)

Nakahara, T., Nakamura, T., Kobayashi, E., Kuremoto, K., Matsuno, T., Tabata, Y., Eto, K., Shimizu, Y. : In situ tissue engineering of periodontal tissues by seeding with periodontal ligament-derived cells. *Tissue Engineering*. **10** : 537-544 (2004)

中原 貴, 中村達雄, 小林英三郎, 井上祐利, 茂野啓示, 田畑泰彦, 江藤一洋, 清水慶彦 : In situ ティッシュ・エンジニアリングによる歯周組織再生の新しいアプローチ : サンドイッチメンブレンによる塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)の徐放効果. *歯科臨床研究*. **1** : 68-77 (2004)

Nakamura, T., Yoshitani, M., Rigby, H., Fullwood, N. J., Ito, W., Inatomi, T., Sotozono, C., Nakamura, T., Shimizu, Y., Kinoshita, S. : Sterilized, freeze-dried amniotic membrane : A useful substrate for ocular surface reconstruction. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. **45** : 93-99 (2004)

野田澤俊介, 中村達雄, 清水慶彦, 瀧川敏算 : メッシュ型人工気管の力学特性 (Mechanical properties of mesh-type artificial tracheas. ). 材料. (in press)

Magrúfov, A., Kanemaru, S., Nakamura, T., Omori, K., Yamashita, M., Shimizu, Y. and Ito, J. : Tissue Engineering for the Regeneration of the Mastoid Air Cells : a Preliminary In Vitro Study. *Acta Otolaryngol*. **124**(supple551) : 75-9 (2004)

森野茂行, 福田正順, 中村達雄 : 再生医療と画像診断—失われた機能の再生をめざして—大型動物モデルの生体モニタリング. *映像情報 Medical*. **36** : 821-825 (2004)

Yamashita, M., Ito, J., Omori, K., Nakamura, T., Kanemaru, S., Kojima, H., Magrúfov, A., Hiratsuka, Y., Shimizu, Y. : Cricoid regeneration using in situ tissue engineering in canine larynx for the treatment of subglottic stenosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. **113** : 623-7 (2004)

## 2) 著 書

中村達雄 : 人工気管. 「先端医療シリーズ 26 呼吸器外科 呼吸器外科の最新医療」(末舩恵一, 人見滋樹 : 監修者, 加藤治文, 小林紘一, 近藤 丘, 清水信義, 白日高歩, 和田洋巳 編, 厚徳社) 62-65 (2004)

## ◆ 学会等の発表 ◆

### 1) 学会・研究会発表

Nakamura, T., Kawanami, E., Fukuda, S., Kobayashi, T., Inoue, M., Yoshitani, M., Toba, T., Itoi, T., Shigeno, K., Nakada, A., Matsuno, T., Morino, S., Kanemaru, S., Yamashita, M., Oomori, K., Shimizu, Y. : Artificial trachea :



Application of bone marrow derived cells for *in situ* tissue engineering. 7<sup>th</sup> World Biomaterials Congress (2004.5.17-19. Sydney)

中村達雄, 福田正順, 岸上義弘, 中田 颯, 吉谷 信, 小林丈士, 森野茂行, 東 高志, 早川克巳, 遠藤克昭: 脊髄損傷治療のための大型動物実験モデルの開発. 第 81 回日本生理学会大会(2004.6.2. 札幌)

中村達雄: ティッシュエンジニアリングと再生医学. 福島県立医科大学・第 4 回耳鼻咽喉科再生医学研究会(2004.9.27. 福島)

Nakamura, T., Fukuda, S., Nakada, A., Kobayashi, T., Itoi, S., Kishigami, Y., Shigeno, K., Kanemaru, S., Inada, Y., Fujikawa, T., Endo, K.: Regeneration of the peripheral nerve on an artificial nerve (biodegradable nerve guide tube). XXXI Congress of ESAO(2004.9.8-11. Warsaw)

中村達雄: 場の理論と *in situ* Tissue Engineering. バイオテクノロジー医工融合講座(神戸大学工学部バイオテクノロジーコース)「再生医療と工学」(2004.10.2. 神戸)

中村達雄, 稲田有史, 萩原明於, 金丸眞一, 森本 茂, 遠藤克昭: 末梢神経の再生医療. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2004(2004.11.15-16. つくば)

Asato, R., Kanemaru, S., Magrúfov, A., Yamashita, M., Omori, K., Nakamura, T.: Skull base rigidity reconstruction by polypropylene-mesh coated with collagen. TESI and ETES(2004.10.13. Lausanne)

安里 亮, 金丸眞一, Akhmar Magrúfov, 山下 勝, 池田晴人, 大森孝一, 伊藤壽一, 中村達雄, 清水慶彦: 組織再生型材料による頭蓋底硬性再建. 第 105 回日本耳鼻咽喉科学会(2004.5.13. 広島)

稲田有史, 清水慶彦, 中村達雄, 森本 茂, 山科幸夫: 有連続性上肢神経損傷に対する術中電気生理学的検討と PGA-C tube による生体内再生医療. 第 47 回日本手の外科学会学術集会(2004.4.22-23. 大阪)

稲田有史, 中村達雄, 遠藤克昭, 森本 茂: Polyglycolic-acid collagen tube を用いた末梢神経損傷に対する生体内再生治療. 末梢神経欠損から神経因性疼痛, Complex Regional Pain Syndrome type II へ. 第 15 回日本末梢神経学会学術集会(2004.8.27-28. つくば)

岩田敏男, 稲田有史, 橋爪圭司, 中山佳奈, 古家 仁, 中村達雄, 清水慶彦: PGA-collagen tube による CRPS type 2 の神経再生～寒冷誘発性疼痛の改善した 7 症例の検討～. 日本ペインクリニック学会第 38 回大会(2004.7.15-17. 東京)

Omori, K., Nakamura, T., Kanemaru, S., Magrúfov, A., Yamashita, M., Shimizu, Y.: Regenerative Medicine of the Tracheal Tissue. COSM(2004.5.2. Phoenix AZ)

大森孝一, 中村達雄, 金丸眞一, 安里 亮, 田中信三, 山下 勝, Akhmar Magrúfov, 伊藤壽一, 清水慶彦: 気道の再生治療. 第 105 回日本耳鼻咽喉科学会(2004.5.14. 広島)

金丸眞一, 中村達雄, Magrúfov Akhmar, 大森孝一, 山下 勝, 安里 亮, 玉木久信, 田中信三, 伊藤壽一, 清水慶彦: *In situ tissue engineering* による神経再生医療—反回神経の機能的再生をめざして—. 第 16 回日本喉頭科学会総会・学術講演会(2004.3.19-20. 松山)

Kanemaru, S., Nakamura, T., Omori, K., Magrúfov, A., Yamashita, M., Tamura, Y., Tamaki, H., Ito, J., Shimizu, Y.: Functional regeneration of tissue engineered recurrent laryngeal nerve and the mechanism of this process studied on the peroneal nerve. COSM(2004.4.30. Phoenix AZ)

Kanemaru, S., Nakamura, T., Omori, K., Magrúfov, A., Yamashita, M., Tamura, Y., Tamaki, H., Shimizu, Y., Ito, J.: Regeneration of the Mastoid Air Cells in Clinical Applications. COSM(2004.5.2. Phoenix AZ)

金丸眞一, 玉木久信, 中村 一, 福島英行, 内藤 泰, 伊藤壽一: *In situ tissue engineering* による乳突蜂巣の再生.

第 105 回日本耳鼻咽喉科学会(2004.5.13. 広島)

金丸眞一, 玉木久信, 中村 一, 福島英行, 内藤 泰, 伊藤壽一: 高度鼓膜穿孔症例に対する鼓室形成術 I 型の治療成績と lateral healing 防止対策. 第 66 回耳鼻咽喉科臨床学会(2004.6.11. 青森)

Kanemaru, S., Omori, K., Nakamura, T., Magrufov, A., Yamashita, M., Fujino, K., Hiraumi, S., Ito, J.: Regeneration of The Mastoid Air Cells. 7<sup>th</sup> International Congress on Cholesteatoma and Ear Surgery(2004.6.24. Hague)

金丸眞一, 山下 勝, Akhmar Magrufov, 喜多知子, 玉木久信, 井口福一郎, 田村芳寛, 大森孝一, 中村達雄, 伊藤壽一: 骨髄由来間葉系幹細胞移植による声帯の再生. 第 7 回日本組織工学会(2004.7.1. 東京)

金丸眞一: 頭頸部領域における神経再生医療. 第 16 回日本頭蓋底外科学会(2004.7.1. 横浜)

金丸眞一, 中村達雄, 大森孝一, 山下 勝, Akhmar Magrufov, 藤野清大, 平海晴一, 玉木久信, 伊藤壽一: 難治性中耳炎に対する再生医療—乳突蜂巣再生の臨床応用—. 第 25 回日本炎症・再生医学会(2004.7.13-14. 東京)

Kanemaru, S., Nakamura, T., Yamashita, M., Magrufov, A., Kita, T., Tamaki, H., Tamura, Y., Omori, K., Ito, J.: Regeneration of the vocal fold by implantaion of bone marrow derived stromal cells. TESI and ETES(2004.10.13. Lausanne)

金丸眞一: 難治性中耳炎に対する再生医学的アプローチ—*In situ* tissue engineering による乳突蜂巣の再生—. 第 14 回日本耳科学会総会(2004.10.22. 京都)

金丸眞一: 小児人工内耳症例—わが国における最年少手術症例の検討—. 第 15 回人工内耳研究会(2004.10.23. 京都)

金丸眞一: 頭頸部領域における再生医療. 第 18 回エムイー学会秋季大会(2004.11.5. 松山)

金丸眞一, 山下 勝, Magrufov Akhmar, 玉木久信, 田村芳寛, 大森孝一, 中村達雄, 伊藤壽一: 自己骨髄由来間葉系幹細胞移植による声帯の再生. 第 56 回日本気管食道科学会総会(2004.11.25-26. 東京)

Kuremoto, K., Nakamura, T., Matsuno, T., Inoue, H., Shimizu, Y.: *In situ* tissue engineering of dental pulp. American Society for Artificial Internal Organs, 50<sup>th</sup> Anniversary Conference(2004.6.17-19. Washington, DC)

Kobayashi, E., Nakamura, T., Nakahara, T., Shimizu, Y., Mataga, I.: Experimental study on regeneration of the temporomandibular joint(TMJ)disc using in situ Tissue Engineering. 17th European Congress for Cranio-Maxillofacial Surgery(2004.9.14-18. Loire Valley)

小林英三郎, 中原 貴, 中村達雄, 又賀 泉: 顎関節円板の再生に関する研究. 日本歯科大学研究推進フォーラム(2004.11.11. 新潟)

重松浩司, 矢島弘嗣, 稲田有史, 清水慶彦, 中村達雄: PGA 人工神経による末梢運動神経再生の評価—CAT 活性を用いた評価とその経時的変化—. 第 47 回日本手の外科学会学術集会(2004.4.22-23. 大阪)

Suzuki, K., Ukimura, O., Ushijima, S., Hirahara, N., Itoh, T., Hagiwara, A., Nakamura, T., Shimizu, Y., Miki, T.: Regeneration of hypogastric nerve using a polyglycolic acid(PGA)-collagen nerve conduit filled with collagen sponge proved electrophysiologically in a canine model. International Continence Society Annual Meeting(2004.8.23-27. Paris)

高橋 充, 中村達雄, 鳥羽紀成, 森野茂行, 梶原直央, 加藤治文, 清水慶彦: 血管内皮前駆細胞を用いた肺高血圧症の治療. 第 29 回日本外科系連合学会学術集会(2004.7.2-3. 東京)

高橋 充, 鳥羽紀成, 森野茂行, 東 高志, 梶原直央, 堤 定美, 中村達雄, 加藤治文: 肺実質への EPC の直接注入: 肺高血圧症に対して. 第 25 回日本炎症・再生医学会(2004.7.13-14. 東京)

玉木久信, 金丸眞一, 山下 勝, Akhmar Magrufov, 松本昌宏, 中村達雄, 伊藤壽一: 肝細胞増殖因子を用いた放射線被爆マウスによる唾液腺障害軽減の試み. 第 105 回日本耳鼻咽喉科学会(2004.5.15. 広島)

玉木久信, 金丸眞一, 山下 勝, Akhmar Magrufov, 大屋夏生, 田村芳寛, 大森孝一, 中村達雄, 伊藤壽一: 放射線誘発マウス唾液腺障害に対する肝細胞増殖因子の検討. 第 7 回日本組織工学会(2004.7.1. 東京)

玉木久信, 金丸 眞一, 山下 勝, Magrufov Akhmar, 伊藤壽一: 放射線による唾液腺障害マウスに対する肝細胞増殖因子の検討. 第 25 回炎症・再生医学会(2004.7.13. 東京)

Tamaki, H., Kanemaru, S., Yamashita, M., Magrufov, A., Tamura, Y., Nakamura, T., Omori, K., Ito, J.: Assessment of the HGF therapy for radiation induced salivary gland disorder in mice. TESI and ETES(2004.10.13. Lausanne)

田村芳寛, 金丸眞一, 松野智宣, 山下 勝, 中村達雄, Akhmar Magrufov, 平塚康之, 大森孝一, 伊藤壽一, 清水慶彦: In situ tissue engineering を用いた上顎骨(口蓋)再生の試み. 第 105 回日本耳鼻咽喉科学会(2004.5.14. 広島)

田村芳寛, 金丸眞一, 山下 勝, Akhmar Magrufov, 松野智宣, 大森孝一, 戸田好信, 中村達雄: In situ tissue engineering を用いた上顎骨(口蓋)再生の試み. 第 7 回日本組織工学会(2004.7.1. 東京)

田村芳寛, 金丸眞一, 山下 勝, Akhmar Magrufov, 松野智宣, 戸田好信, 大森孝一, 中村達雄: In situ tissue engineering を用いた上顎骨(口蓋)再生の試み. 第 25 回炎症・再生医学会(2004.7.13. 東京)

Tamura, Y., Kanemaru, S., Yamashita, M., Magrufov, A., Tamaki, H., Nakamura, T., Matsuno, T., Omori, K., Ito, J.: The palatal bone regeneration by *in situ* tissue engineering. TESI and ETES(2004.10.13. Lausanne)

内藤 泰, 平海晴一, 藤野清大, 金丸眞一, 辻 純, 三浦 誠, 伊藤壽一: 蝸牛骨化例の人工内耳. 第 105 回日本耳鼻咽喉科学会(2004.5.13. 広島)

中瀬有遠, 萩原明郎, 山岸久一, 中村達雄: 神経再生チューブの開発と骨盤部悪性腫瘍に対する神経合併切除術での臨床応用. 第 66 回日本臨床外科学会総会(2004.10.13-15. 盛岡)

Nakada, A., Nakamura, T., Yoshitani, M., Fukuda, S., Azuma, T., Tsutsumi, S., Shimizu, Y.: Brain remodeling using subcutaneous white adipose tissue. American Society for Artificial Internal Organs, 50<sup>th</sup> Anniversary Conference (2004.6.17-19. Washington, DC)

中山佳奈, 稲田有史, 橋爪圭司, 岩田敏男, 古家 仁, 中村達雄, 清水慶彦: PGA-collagen tube による CRPS type 2 の神経再生治療～浅腓骨神経 65mm 欠損の再生成功例～. 日本ペインクリニック学会第 38 回大会(2004.7.15-17. 東京)

野田澤俊介, 瀧川敏算, 中村達雄, 清水慶彦: メッシュ型人工気管の力学物性. 京都大学医工学連携シンポジウム(2004.7.2. 京都)

野田澤俊介, 中村達雄, 清水慶彦, 瀧川敏算: メッシュ型人工気管の力学的性質. 第 52 回レオロジー討論会(2004.9.22-24. 弘前)

野田澤俊介, 中村達雄, 清水慶彦, 瀧川敏算: メッシュ型人工気管の力学挙動. 第 48 回日本学術会議材料研究連合講演会(2004.10.20-21. 東京)

野本幸男, 鈴木輝久, 多田靖宏, 三宅将生, 狭間章博, 金丸眞一, 大森孝一: 組織工学的手法による気管上皮細胞組織の作成. 第 56 回日本気管食道科学会(2004.11.25. 東京)

橋爪圭司, 稲田有史, 岩田敏男, 中山佳奈, 古家 仁, 中村達雄, 清水慶彦: PGA-collagen tube による CRPS type 2 に対する生体内神経再生治療. 尺骨神経の再生を電気生理学的に直接確認し得た 1 症例. 第 26 回日本疼痛学会(2004.7.17. 東京)

- 橋爪圭司, 稲田有史, 岩田敏男, 中山佳奈, 古家 仁, 中村達雄, 清水慶彦: PGA-collagen tube による CRPS type 2 の神経再生治療～関節拘縮が消失し完全な運動機能を再獲得した 1 症例～. 日本ペインクリニック学会第 38 回大会(2004.7.15-17. 東京)
- 平海晴一, 金丸眞一, 藤野清大, 山下 勝, Akhmar Magruf, 大森孝一, 中村達雄, 内藤 泰, 伊藤壽一: 乳突蜂巣再生の臨床応用. 第 105 回日本耳鼻咽喉科学会(2004.5.13. 広島)
- Fukuda, S., Nakamura, T., Kishigami, Y., Endo, K., Azuma, T., Fujikawa, T., Tsutsumi, S., Shimizu, Y.: Diagnostic evaluation of canine spinal cord injury using magnetic resonance imaging. American Society for Artificial Internal Organs, 50<sup>th</sup> Anniversary Conference(2004.6.17-19. Washington, DC)
- 福田正順, 中村達雄, 岸上義弘, 遠藤克昭, 東 高志, 藤川孝満, 堤 定美, 清水慶彦: イヌ脊髄損傷モデルの MR 像と組織像による評価. 第 25 回日本炎症・再生医学会(2004.7.13-14. 東京)
- 藤野清大, 金丸眞一, Akhmar Magruf, 山下 勝, 平海晴一, 大森孝一, 中村達雄, 内藤 泰, 伊藤壽一: 術後乳突腔に移植可能な呼吸上皮粘膜シートの作成. 第 105 回日本耳鼻咽喉科学会(2004.5.13. 広島)
- Hori, Y., Kimura, D., Nakamura, T.: Tissue engineering of the common bile duct by collagen sponge scaffold grafting. Tissue Engineering Society International(2004.10.13. Lausanne)
- Magruf, A., Kanemaru, S., Nakamura, T., Yamashita, M., Omori, K., Tamura, Y., Tamura, T., Ito, J.: Regeneration of mastoid mucosa, invitro preliminary study. 第 7 回日本組織工学会 (2004.7.1. 東京)
- Magruf, A., Kanemaru, S., Yamashita, M., Nakamura, T., Tamaki, H., Tamura, Y., Omori, K., Ito, J.: Mastoid mucosa regeneration by tissue engineering technique, *in vitro* study. TESI and ETES(2004.10.13. Lausanne)
- 松野智宣, 中村達雄, 福田正順, 中村敦子, 荒井千明, 清水慶彦, 佐藤田鶴子: 塩化カルシウムによる PRP 活性化前後の変化—PDGF-AB 量と MSC の増殖効果—. 第 23 回日本歯科薬物療法学会総会(2004.2.28. 東京)
- 松野智宣: 血小板放出成長因子を用いた骨再生. 第 18 回医工学若手研究者発表会(2004.3. 京都)
- 宮井崇宏, 松野智宣, 荒井千明, 小俣和彦, 北原和樹, 宮坂孝弘, 佐藤田鶴子: 血小板放出因子に徐放効果に関する検討. 第 58 回日本口腔科学会総会(2004.5.8. 横浜)
- Mastuno, T., Nakamura, T., Kuremoto, K., Kobayashi, T., Satoh, T., Shimizu, Y.: Augmentation of Alveolar Bone Using PGA Tube Filled with  $\beta$ -TCP/Collagen Composite. 7th World Biomaterials Congress(2004.5.18. Sydney)
- 松野智宣, 中村達雄, 呉本晃一, 佐藤田鶴子, 清水慶彦: Guided Bone Augmentation による歯槽骨再生のためのスキヤホルドの開発. 第 25 回日本炎症・再生医学会(2004.7.13-14. 東京)
- 宮井崇宏, 松野智宣, 北原和樹, 小俣和彦, 宮坂孝弘, 玉澤 学, 佐藤田鶴子, 荒井千明: コラーゲンスポンジによる血小板放出成長因子の control release について. 第 2 回日本再生歯科医学会学術大会(2004.9.4. 札幌)
- 松野智宣, 中村達雄, 呉本晃一, 佐藤田鶴子, 清水慶彦: PGA コンポジットチューブによるコントロールリリースシステムを用いた歯槽骨再生. 第 2 回日本再生歯科医学会学術大会(2004.9.4. 札幌)
- 松野智宣, 中村達雄, 呉本晃一, 宮坂孝弘, 北原和樹, 小俣和彦, 宮井崇宏, 清水慶彦, 佐藤田鶴子:  $\beta$ -TCP/コラーゲンスポンジと PRP による歯槽骨再生. 第 20 回日本歯科医学会総会(2004.10.31. 横浜)
- 松野智宣, 内村英次, 大野忠夫, 佐藤田鶴子, 十河 友, 伊藤敦夫, 山崎敦司, 石川勇介, 近藤 直, 一ノ瀬 昇: 骨再生のためのコラーゲン・フィブロネクチン担持アパタイトの開発. 日本バイオマテリアル学会シンポジウム(2004.11.15. つくば)
- 十河 友, 伊藤敦夫, 山崎敦司, 石川勇介, 近藤 直, 一ノ瀬 昇, 内村英次, 大野忠夫, 松野智宣, 佐藤田鶴子: 医療用輸液を用いたアパタイトへのコラーゲン・フィブロネクチン担持. 日本バイオマテリアル学会シンポ

ジウム(2004.11.15. つくば)

森野茂行, 中村達雄, 鳥羽紀成, 高橋 充, 永安 武, 櫛引俊宏, 田畑泰彦, 吉谷 信, 清水慶彦: 肺気腫: グロ  
スファクターによる治療. 第 44 回日本呼吸器学会学術講演会(2004.3.31-4.2. 東京)

Morino, S., Nakamura, T., Toba, T., Takahashi, M., Nagayasu, T., Yoshitani, M., Shimizu, Y.: Basic fibroblast growth  
factor induces recovery of pulmonary blood flow in the canine emphysema models: Quantitative assessment  
using dynamic contrast-enhanced MRI. American Society for Artificial Internal Organs, 50<sup>th</sup> Anniversary Confer-  
ence(2004.6.17-19. Washington, DC)

森野茂行, 中村達雄, 鳥羽紀成, 高橋 充, 永安 武, 東 高志, 堤 定美, 櫛引俊宏, 田畑泰彦, 吉谷 信, 清  
水慶彦: 徐放性線維芽細胞増殖因子を用いた肺機能再生に関する検討. 第 25 回日本炎症・再生医学会  
(2004.7.13-14. 東京)

山下 勝, 大森孝一, 金丸眞一, Akhmar Magruf, 中村達雄, 伊藤壽一, 清水慶彦: 組織工学的的手法による喉頭  
の再生: 内腔の形態復元を目指して. 第 16 回日本喉頭科学会総会・学術講演会(2004.3.19-20. 松山)

Yamashita, M., Kanemaru, S., Magruf, A., Nakamura, T., Omori, K., Ito, J.: In vitro trial for the regeneration of the  
mastoid air cells. COSM(2004.5.1. Phoenix AZ)

山下 勝, 金丸眞一, 中村達雄, Akhmar Magruf, 藤野清大, 田村芳寛, 大森孝一, 清水慶彦, 伊藤壽一: 組織  
工学的的手法による乳突蜂巣再生の試み. 第 105 回日本耳鼻咽喉科学会(2004.5.13. 広島)

山下 勝, 大森孝一, 金丸眞一, Akhmar Magruf, 田村芳寛, 中村達雄, 伊藤壽一: 喉頭声帯隆起の組織工学的  
再生のころみ. 第 7 回日本組織工学会(2004.7.1. 東京)

山下 勝, 金丸眞一, Magruf Akhmar, 中村達雄, 大森孝一, 伊藤壽一: 組織工学的的手法による乳突蜂巣再生の  
試み. 第 25 回日本炎症・再生医学会(2004.7.13-14. 東京)

Yamashita, M., Omori, K., Kanemaru, S., Magruf, A., Tamaki, H., Tamura, Y., Nakamura, T., Ito, J.: A preliminary  
study on laryngeal regeneration using tissue engineering technique. TESI and ETES(2004.10.13 Lausanne)

山下 勝, 金丸眞一, 大森孝一, Magruf Akhmar, 玉木久信, 田村芳寛, 中村達雄, 伊藤壽一: 気管の部分欠損  
に対する組織工学的再生. 第 56 回日本気管食道科学会総会(2004.11.25-26. 東京)

2) 講演会・シンポジウム

中村達雄: 再生医学と聖書, 「日本キリスト者医科連盟月例会」(2004.12.25)

松野智宣: 再生医療を理解する, 「静岡県保険医協会東部支部学術講演会」(2004.5.27. 三島)

松野智宣: 歯科における再生医療についてーその現状と展望ー, 「東京都日本歯科大学歯学部校友会江東七地区連  
合会学術講演会」(2004.6.17. 東京)

松野智宣: 歯科における鎮痛剤の選び方, 再生医療を理解する, 「鹿児島県地区日本歯科大学校友会歯学研修会」  
(2004.6.19. 鹿児島)

松野智宣: 再生医療を理解するー日常臨床への応用ー, 「東京都港区芝歯科医師会学術講演会」(2004.9.16. 東京)

松野智宣: 再生医療を理解するーその基礎と臨床ー, 「東京都武蔵野市歯科医師会学術講演会」(2004.11.10. 東京)

松野智宣: 再生医療を理解するー日常臨床への応用ー, 「東京都日本歯科大学校友会杉並支部学術講演会」  
(2004.11.12. 東京)

松野智宣: 再生医療を理解するー歯科への応用ー, 「朝霞地区歯科医師会学術講演会」(2004.11.18. 朝霞)

# 附属再生実験動物施設

## Labortory of Animal Experiments for Regeneration

分野主任 施設長(併)・教授 坂口 志文

*Acting Head, Prof. Shimon Sakaguchi*

### 【再生実験動物施設の現状について】

附属再生実験動物施設では、2004年11月30日現在、イヌ；165頭、ネコ；8匹、サル；5頭、ウサギ；63羽、ラット；110匹、マウス；7598匹が実験動物として飼育され、実験に供されている。これらの実験動物の日常的な飼育・管理を専任助教授1名・技術職員2名・非常勤職員19名で行っている。また、本年度より、東館動物施設管理運営担当として、副施設長(併任)が設置された。

当研究所で動物実験を行うにあたっては、生命倫理・動物福祉に十分の理解と配慮をして実施する事が大前提である。この原則を周知・徹底させるため、動物実験に従事する者は、動物実験に関する法規制・内規、動物実験実施にあたっての原則、実験動物の取り扱い方等についての所内講習を受講することが義務付けられている。南部総合研究実験棟・動物飼育室を利用する者は、これに加えて、SPF(Specific Pathogen Free)マウスの取り扱いについて講習を受けなければならない。動物実験を実施するには、動物実験計画書を当研究所の動物実験計画書審査委員会に提出し、厳格な審査を受け承認を得ることが必要である。

南部総合研究実験棟(2002年12月設置、再生医科学研究所、ウイルス研究所、医学部附属ゲノム医学センターの3部局による共同研究実験棟)マウス飼育室は稼働を開始してから2年が経過した。現在、SPFマウス飼育室・全16室中、再生研；11室、ウイルス研；4室、ゲノム医学センター；1室、を使用している。本マウス飼育棟ではSPFマウスのみが飼育され、動物実験が行われている。搬入できるマウスは、指定実験動物供給業者から購入可能なSPFマウス及び当施設等において体外受精・受精卵移植によるクリーンアップを受けSPF化されたマウスのみ限定されている。また、本年度から、飼育室に持ち込む生物試料(細胞・血清等)も、事前に当施設による検疫を受けることが義務付けられた。これらの厳格なる管理の下、現在までのところ、感染事故等の深刻な問題はおきていない。ただ、共同実験棟マウス飼育室においては、SPFマウスの微生物汚染を防止するためには、動物飼育員、利用者各人の十分な注意が必要であるが、多数の人間が出入りする以上、いつ何時汚染事故が生じるかもしれない。不幸にして、幾つかの他校動物実験施設で微生物汚染事故が発生したことが報告されている。それらの苦い経験から、SPFマウスの微生物汚染の発生原因、汚染拡大様式、汚染除去法などを十分に学び、万一汚染が生じた時のことも想定し、汚染を最小限度に封じ込める等の対策について、本動物施設でも予め具体的な方策を立てておく必要があるであろう。一方、稼働し始めて明らかとなってきた設計、建築、設備上の種々の問題点、すなわち、室温・風量制御、凍結防止対策の不備等も徐々に把握されつつあり、対応可能になってきた。また、施設運営に関しても、3部局共同の建物であるため、当初、運営・予算の執行における困難さが指摘されてきたが、試行錯誤ながらも克服されつつある。ただ、独立法人化後の運営交付金の削減により、安定した施設運営が困難になりつつあり、この様な恒常的施設運営のための別枠の予算措置が講じられることを期待するものである。

東館動物施設は、本年度より、副施設長による管理のもと、時代の要請に適合した飼育施設に変貌しつつある。すなわち、指紋認証制による利用者登録の導入、サル飼育室の改良、遺伝子改変動物飼育に適合したマウス・ラッ

ト室の改造等である。また、イヌについても、飼育数と出入の厳密なる把握により、スムーズな登録と狂犬病予防注射が可能になった。しかしながら、施設・備品の老朽化が進行しつつあり、問題発生時に、まさに自転車操業的に対応しているのが現状である。また、毎年度予算的にも逼迫しており、このような対応がいつまで続けられるか予測不能である。今後は、南部棟動物施設と同様の受益者負担システムのさらなる導入と将来の大規模な改装を念頭においた施設運営が望まれる。

なお、2004年6月より、近藤玄が専任教員助教授として着任した。また、同年10月より戸口田淳也教授が副施設長に就任した。

## 【研究概要】

再生実験動物施設は、再生医科学研究所の附属施設として、研究実施に不可欠である動物実験に関する全般的な管理業務(再生研の動物実験計画書の審査に関係する業務、動物実験に関する講習会の開催、再生研における実験動物の維持、管理など)と共に、一研究分野として以下の研究活動を行っている。

### 研究テーマ 1. GPI アンカー型蛋白質の代謝メカニズムと受精

現在の当研究室のメインテーマは、膜結合蛋白質の一種であるグリコシルフォスファチジルイノシトール(GPI)アンカー型蛋白質の代謝メカニズムの解明とその生殖細胞系列での生物学的意義の探究である。このため、まず、個体内での GPI アンカー型蛋白質の局在を網羅的に解析するために、GPI アンカー型 GFP レポーター蛋白質(EGFP-GPI)を構築した。これを導入したトランスジェニックマウスでは、予想以上に EGFP-GPI が、外分泌腺や精巣において遊離していることを見出した(Kondoh G. et al. FEBS lett. 458, 299-303, 1999)。以後、この現象に特に着目し、マウス精巣生殖細胞より GPI アンカー型蛋白質遊離因子の精製・構造解析を行った。その結果、この因子のひとつとしてアンギオテンシン変換酵素(ACE)を単離した。すなわち、この酵素には、アンギオテンシン I やブラディキニンなどの昇圧ペプチドの活性を制御するのみならず、多くの GPI アンカー型蛋白質を細胞膜より遊離する新たな活性を持つことが明らかとなった。また、今回同定した活性は、ジペプチジルカルボキシペプチダーゼとして、これらのペプチドを分解するための活性中心とは別の部位に位置し、また、GPI アンカー型蛋白質のペプチド部分ではなく、GPI アンカーそのものを切断することも突き止めた。一方、ACE ノックアウトマウスでは、精子-透明体結合不全による雄性不妊が知られている。そこで、このマウスの精子をペプチダーゼ不活性型 ACE で処理したところ受精率が回復した(図参照)。このことから、ACE は *in vivo* で GPI アンカー型蛋白質遊離活性があり、この活性をもって受精に重要な役割を担っていることが示唆された。今後は、これらの知見をもとに、

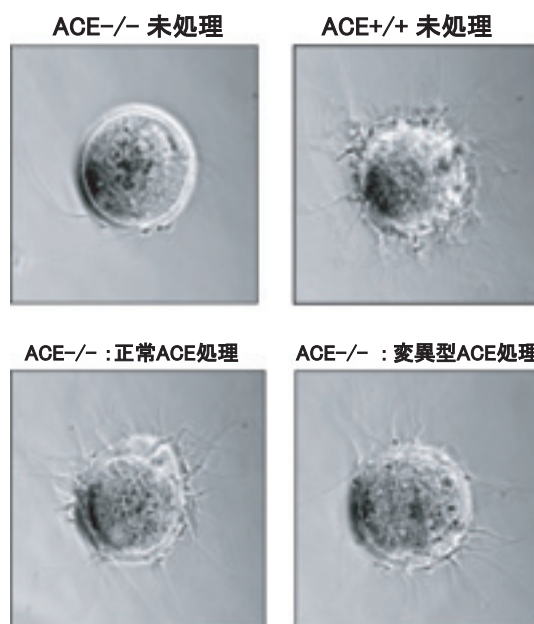
1. ACE の新規活性を担う機能ドメイン・活性中心の同定。
2. ペプチダーゼ活性欠損型 ACE 導入トランスジェニックマウスの作製による GPI アンカー切断活性の生物学的意義の検討。
3. 精巣型 ACE の糖鎖修飾と受精への関与の検討。
4. 生殖細胞における ACE 基質の検索と受精担当分子の同定。

などを研究課題として取り組んで行きたい。

### 研究テーマ 2. 遺伝子改変マウス作製技術の簡易化

遺伝子改変マウスの作製には、何段階ものプロセスが存在し、多くの時間・労力・経費を必要とする。なかでも

特に問題になるのが、ターゲティングベクターの作製、ES細胞の培養そしてキメラマウス作製の段階であろう。我々は、これらのステップにおける“時間と労力のかからない技術の採用や改良”を心掛けてきた。ターゲティングベクターの作製においては、BAC クローンに基づく大腸菌内組み換えシステム(リコンビネーリング)を採用し、従来に比べて四分の一の時間短縮に成功した。また、キメラマウスの作製においては、凝集法を改良し、高価なインジェクション機器の購入や煩雑なメインテナンスのいらぬ方法を可能にした(Kondoh G. et al. J. Biochem. Biophys. Methods., 39, 137-142, 1999)。これらの技術発展をもとに、現在までに幾多の遺伝子改変マウスの作製に参加している。



The angiotensin-converting enzyme(ACE)is a key regulator of blood pressure. It is known to cleave small peptides, such as angiotensin I and bradykinin and changes their biological activities, leading to up-regulation of blood pressure. Here we describe a novel activity for ACE: a glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored protein releasing activity(GPIase activity). Unlike its peptidase activity, GPIase activity is weakly inhibited by the tight binding ACE inhibitor and not inactivated by substitutions of core amino acid residues for the peptidase activity, suggesting that the active site elements for GPIase differ from those for peptidase activity. ACE shed various GPI-anchored proteins from the cell surface, and the process was accelerated by the lipid raft disruptor filipin. The released products carried portions of the GPI-anchor, indicating cleavage within the GPI moiety. Further analysis by HPLC/mass spectrometry predicted the cleavage site at the mannose-mannose linkage. GPI-anchored proteins such as TESP5 and PH-20 were released from the sperm membrane of wild-type mice but not in *Ace* knockout sperm *in vivo*. Moreover, peptidase-inactivated E414D mutant ACE and also PI-PLC rescued the egg binding deficiency of *Ace* knockout sperms, implying that ACE plays a crucial role in fertilization via this novel activity.

(文責 近藤 玄)

## 【業績目録】

### ◆ 誌上発表 ◆

#### 1) 原著論文

Yusa K., Horie K., Kondoh G., Kouno M., Maeda Y., Kinoshita T. and Takeda J. Genome-wide phenotype analysis in ES cells by regulated disruption of the Bloom's syndrome gene. *Nature*, 429 : 896-899, 2004.

Komazawa N., Suzuki A., Sano S., Horie K., Matsuura N., Mak T. W., Nakano T., Takeda J. and Kondoh G. Tumorigenesis facilitated by *Pten* deficiency in the skin: an evidence of p53-Pten complex formation on the initiation



phase. *Cancer Scie.*, **95** : 639–643, 2004.

Kouno M., Kondoh G., Horie K., Komazawa N., Ishii N., Takahashi Y., Takeda J. and Hashimoto T. Ahnak/Desmoyokin is dispensable for proliferation, differentiation, and maintenance of integrity in mouse epidermis. *J. Invest. Dermatol.*, **123** : 700–707, 2004.

Komazawa N., Matsuda M., Kondoh G., Mizunoya W., Iwaki M., Takagi T., Sumikawa Y., Inoue K., Suzuki A., Mak T-W., Nakano T., Fushiki T., Takeda J. and Shimomura I. Enhanced insuline sensitivity, energy expenditure, and thermogenesis in adipose-specific PTEN suppression in mice. *Nat Med.*, **10** : 1208–1215, 2004.

Nishida K., Yamaguchi O., Hirotsu S., Hikoso S., Higuchi Y., Watanabe T., Takeda T., Osuka S., Morita T., Kondoh G., Uno Y., Kashiwase K., Taniike M., Nakai A., Matsumura Y., Miyazaki J-I., Sudo T., Hongo K., Kusakari Y., Kurihara S., Chien K. R., Takeda J., Hori M. and Otsu K. p38  $\alpha$  mitogen-activated protein kinase plays a critical role in cardiomyocyte survival but not in cardiac hypertrophic growth in response to pressure overload. *Mol. Cell Biol.*, **24** : 10611–10620, 2004.

Kondoh G., Tojo H., Nakatani Y., Komazawa N., Murata C., Yamagata K., Maeda Y., Kinoshita T., Okabe M., Taguchi R. and Takeda J. Angiotensin-converting enzyme is a GPI-anchored protein releasing factor crucial for fertilization. *Nat Med.*, **11** : 160–166, 2005.

# 附属幹細胞医学研究センター

## 霊長類胚性幹細胞研究領域 Laboratory of Embryonic Stem Cell Research

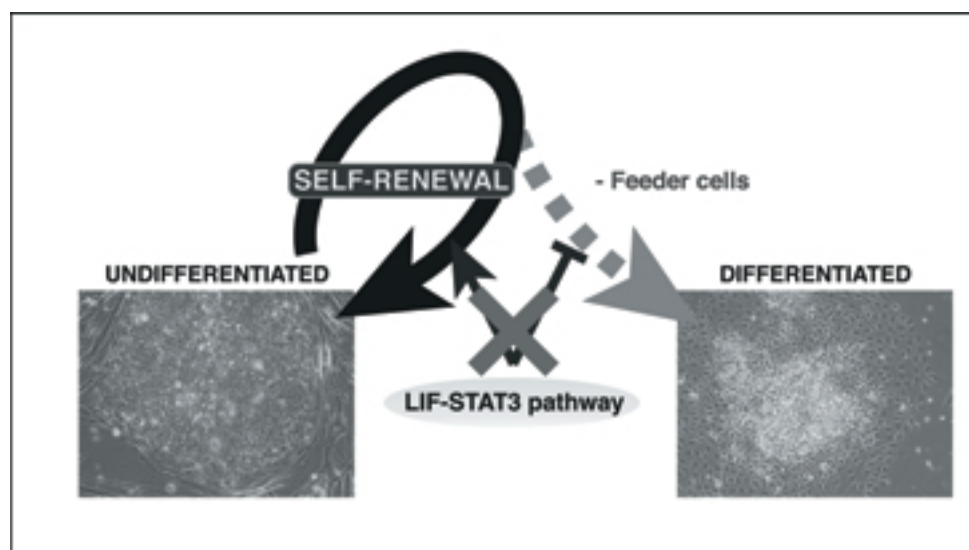
分野主任 助教授 末盛 博文

*Assoc. Prof. Hirofumi Suemori*

### 【研究概要】

霊長類胚性幹細胞研究領域ではヒト及び他の霊長類 ES 細胞の医療応用を目指した基盤研究を行っている。ヒト ES 細胞株の樹立とその分配は本研究領域の最も重要な役割である。ヒト ES 細胞は再生医療の発展に大きく寄与するものと考えられ、国内で樹立された細胞株の供給体制の確立が望まれてきた。我々はヒト ES 細胞株樹立研究計画の政府承認を得て、インフォームドコンセントに基づいて凍結胚の提供を受け平成 15 年初頭よりヒト ES 細胞株樹立を行い、これまでに提供を受けた凍結胚から 3 株の ES 細胞株を樹立した。これらのヒト ES 細胞株はそれぞれ KhES-1,2,3 と名付けられた。2004 年 3 月から細胞株の分配が開始され、これまでに 7 件の研究計画に対して細胞株が分配されている。

また、我々は ES 細胞の医療応用を目指した基盤研究として、霊長類 ES 細胞の多能性維持機構、自己複製能に関する研究を行っている。ES 細胞の未分化性維持機構の研究はこれまで主にマウス ES 細胞を用いてなされてきた。マウス ES 細胞の場合、LIF/STAT3 シグナル伝達経路がその未分化維持に重要な役割を担っており、LIF の持つ分化抑制作用によりマウス ES 細胞は支持細胞無しに安定して未分化状態を維持することが可能であることが示されている。一方ヒトを含む霊長類 ES 細胞では LIF による分化抑制効果が認められず、その増殖・未分化維持には支持細胞が必須である。そこで我々は霊長類であるサル ES 細胞を用いて未分化維持への LIF/STAT3 シグナル



霊長類 ES 細胞の未分化性維持機構

霊長類 ES 細胞では LIF/STAT3 シグナル伝達経路は機能しているにもかかわらず、マウス ES 細胞とは異なり未分化性維持には関与していないことが示された。霊長類 ES 細胞の自己増殖を維持するためにはフィーダー細胞に由来する何らかの因子が必須であり、現在その解析を進めている。

伝達経路の関与を検討したところ、霊長類 ES 細胞において LIF/STAT3 シグナル伝達経路は機能しているにもかかわらず未分化維持に必須な役割を担っていないことを示した。このほか、ES 細胞の遺伝子操作技術の開発研究などの将来の医療応用において不可欠の開発研究を進めている。

#### Laboratory of Embryonic Stem Cell Research

We are performing basic researches aiming clinical use of human embryonic stem cells, and also pre-clinical researches using non-human primate ES cells. After the governmental approval of the research project, we started establishing human ES cell lines using donated frozen embryos. So far, we have successfully established three human ES cell lines, KhES-1,2,3. We have started distributing these cell lines on March 2004.

We are studying on molecular mechanisms for maintenance of pluripotency and self-renewal of primate ES cells. The leukemia inhibitory factor/glycoprotein 130/signal transducer and activator of transcription 3 (LIF/gp130/STAT 3) pathway plays an essential role in the maintenance of self-renewal and pluripotency in mouse embryonic stem (ES) cells. In primate ES cells, including those from humans and monkeys, however, LIF alone is not sufficient to maintain self-renewal. Then, we examined LIF effects on primate ES cell self-renewal and showed that the LIF/STAT3 pathway functions in primate ES cells but is not essential for the maintenance of self-renewal.

We are also developing techniques of genetic manipulation of primate ES cells. These researches are considered indispensable for clinical and pre-clinical researches using human and non-human ES cells.

#### 【業績目録】

##### ◆ 誌上発表 ◆

##### 1) 原著論文

Hatano SY, Tada M, Kimura H, Yamaguchi S, Kono T, Nakano T, Suemori H, Nakatsuji N, Tada T. Pluripotential competence of cells associated with Nanog activity. in press.

Yasushi Takagi, Jun Takahashi, Hidemoto Saiki, Asuka Morizane, Takuya Hayashi, Yo Kishi, Hitoshi Fukuda, Yo Okamoto, Masaomi Koyanagi, Makoto Ideguchi, Hideki Hayashi, Takayuki Imazato, Hiroshi Kawasaki, Hirofumi Suemori, Shigeki Omachi, Hidehiko Iida, Nobuyuki Itoh, Norio Nakatsuji, Yoshiki Sasai and Nobuo Hashimoto. Dopaminergic neurons generated from monkey embryonic stem cells function in a Parkinson primate model. J. Clin. Invest. in press.

Tsuyoshi Fujioka, Kentaro Yasuchika, Yukio Nakamura, Norio Nakatsuji, Hirofumi Suemori. A simple and efficient cryopreservation method for primate embryonic stem cells. Int. J. Dev. Biol. 48, 1149-1154 (2004).

Tomoyuki Sumi, Yasuko Fujimoto, Norio Nakatsuji, and Hirofumi Suemori. STAT3 is Dispensable for Maintenance of Self-Renewal in Nonhuman Primate Embryonic Stem Cells. Stem Cells, 22, 861-872 (2004).

Umeda K, Heike T, Yoshimoto M, Shiota M, Suemori H, Luo HY, Chui DH, Torii R, Shibuya M, Nakatsuji N, Nakahata T. Development of primitive and definitive hematopoiesis from nonhuman primate embryonic stem cells in vitro. Development 131, 1869-1879 (2004).

Masatoshi Haruta, Yoshiki Sasai, Hiroshi Kawasaki, Kaori Amemiya, Sotaro Ooto, Masaaki Kitada, Hirofumi Suemori, Norio Nakatsuji, Chizuka Ide, Yoshihito Honda, and Masayo Takahashi. *In vitro* and *in vivo* Characterization of

Pigment Epithelial Cells Differentiated from Primate Embryonic Stem Cells. *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.* 45, 1020-1025(2004).

## 2) 著 書

Hirofumi Suemori and Norio Nakatsuji. Generation and characterization of monkey ES cells. in “Embryonic Stem Cells -II: Methods and Protocols” (Humana Press, NJ, USA) in press.

## 3) 総 説

長谷川光一, 末盛博文, 中辻憲夫: ES 細胞を用いた再生医療への展望. *実験医学* in press.

角 智行, 末盛博文: ヒト ES 細胞株の樹立と培養. *細胞工学* 11, 1260-1263, (2004).

長谷川光一, 末盛博文: ES 細胞の現状と展望. *治療学* 38, 1052-1055, (2004).

末盛博文: ヒト ES 細胞株作成の現場. *Medical Science Digest* 30, 406-409, (2004)

長谷川光一, 末盛博文: ヒト ES 細胞と再生医療, *KOKUTAI*, 25, No.6, 6(2004)

末盛博文: ヒト ES 細胞と再生医療. *今日の移植* 17, 171-176, (2004)

末盛博文: ヒト ES 細胞と再生医療. *再生医療日本再生医療学会雑誌*, 3, 43-48, (2004).

安近健太郎, 末盛博文, 中辻憲夫: ES 細胞と細胞移植. *小児外科* 36, 773-778, (2004)

末盛博文: ヒト ES 細胞株の樹立と医療応用. *臨床病理* 52, 254-258, (2004)

## ◆ 学会等の発表 ◆

### 1) 学会・研究会発表

角 智行, 中辻憲夫, 末盛博文: 霊長類 ES 細胞における STAT3 非依存的な未分化維持制御(第 27 回日本分子生物学会 2004.12.8-11. 神戸)

秦野慎矢, 多田政子, 木村博信, 山口新平, 河野友宏, 仲野 徹, 末盛博文, 中辻憲夫, 多田 高: 転写因子 Nanog に制御される胚性幹細胞の未分化性(第 27 回日本分子生物学会 2004.12.8-11. 神戸)

黒田貴雄, 多田政子, 久保田広志, 木村博信, 秦野慎矢, 末盛博文, 中辻憲夫, 多田高: Octamer/Sox 配列が Nanog の転写を制御する(第 27 回日本分子生物学会 2004.12.8-11. 神戸)

佐々木えりか, 石井一, 花澤喜三郎, 末盛博文, 中辻憲夫, 栗田良, 谷憲三朗, 大西保行, 玉置憲一, 谷岡功邦: 新規コモンマームセット胚性幹細胞株の樹立とその細胞特性(第 27 回日本分子生物学会 2004.12.8-11. 神戸)

黒田貴雄, 多田政子, 久保田広志, 木村博信, 秦野慎矢, 末盛博文, 中辻憲夫, 多田高: 未分化性維持因子 Nanog の転写制御機構(第 76 回日本遺伝学会 2004.9.27-29. 吹田)

Takao Kuroda, Masako Tada, Hiroshi Kubota, Hironobu Kimura, Shin-ya Hatano, Hirofumi Suemori, Norio Nakatsuji, Takashi Tada: Regulatory element required for on-off switching of pluripotential cell specific Nanog expression. (13th Conference of the International Society of Differentiation 2004.9.5-9. Hawaii)

千住 覚, 末盛博文, 松吉秀武, 平田真哉, 植村靖史, Yu-Zhen Chen, 福岡大喜, 古谷正敬, 中辻憲夫, 西村泰治: カニクイザル ES 細胞からの樹状細胞分化誘導法の開発(第 13 回日本組織適合性学会 2004.9.23-25. 豊中)

古谷正敬, 末盛博文, 田中守, 吉村泰典, 野澤志朗, 中辻憲夫: カニクイザル ES 細胞へのエレクトロポレーション法による遺伝子導入法の確立(哺乳動物卵子学会 2004.5.15-16. 大津)

浅香勲, 末盛博文, 菅井晴美, 岡本玲子, 鈴木豊, 近藤靖, 仁藤新治, 下岡正志, 中辻憲夫: カニクイザル ES 細胞を用いた霊長類 ES 細胞用フィーダー細胞系の開発(第 3 回日本再生医療学会 2004.3.23-25. 千葉)

## 2) 講演・シンポジウム

2.7 第 9 回関東甲信越セロトニン研究会学術集会 特別講演「ヒト ES 細胞: 移植医療への応用に向けての課題」(東京)

2.18 信州大学医学部臓器発生制御医学講座セミナー(松本) 「ES 細胞の医療利用へ向けての課題」

5.10 遺伝子・デリバリー研究会第 4 回シンポジウム(京都) 招待講演「ヒト ES 細胞と再生医療」

6.27 第 77 回日本内分泌学会総会メインシンポジウム(京都) 「ヒト ES 細胞株の樹立と医学研究」

7.13 近畿大学 21 世紀 COE プログラム「食資源動物分子工学研究拠点」(和歌山) 第 4 回 COE セミナー「再生医学と ES 細胞」

## 3) 受賞

4.9 日経 BP 技術賞「国産ヒト ES 細胞株の樹立に成功, 供給体制を確立」

# 幹細胞分化制御研究領域 Laboratory of Stem Cell Differentiation

分野主任 助教授 山下 潤

Assoc. Prof. Jun K. Yamashita

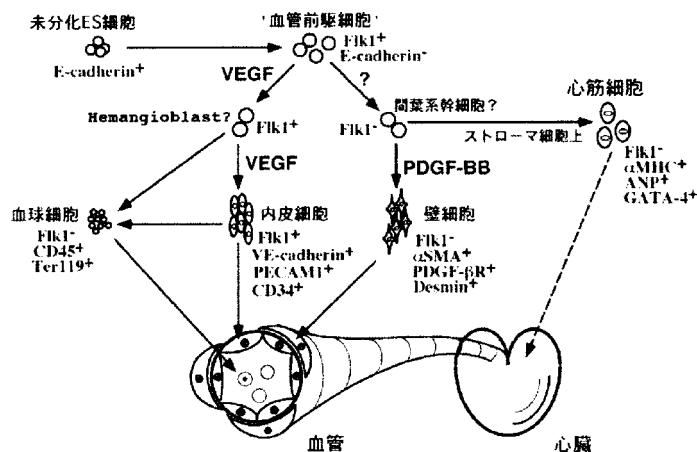
## 【研究概要】

幹細胞分化制御研究領域では, ES 細胞(胚性幹細胞: embryonic stem cells)を用いて, 心血管系の細胞分化・再生に関する研究を行っている。

ES 細胞は, 全ての種類の細胞に分化することができるいわゆる「万能」幹細胞と考えられている。この全能性(pluripotency)を *in vitro* において引き出し, 分化誘導した細胞を再生治療に用いようとする試みが様々な臓器, 細胞をターゲットに行われている。我々は, ES 細胞を用いて中胚葉由来組織である血管および心臓の分化研究を行ってきた。

血管は, 内腔を一層におおう内皮細胞とそれを外から取りまく壁細胞の 2 種類の細胞からなっている。その中を流れる血球細胞を含めてこれら血管構成細胞は互いに密接に連関しあい血管を形作る。VEGF の受容体の一つである Flk1 は血球・血管系細胞の最も早期の分化マーカーおよび中胚葉のマーカーと考えられている。我々は, ES 細胞を用いて *in vitro* において中胚葉, さらに血管の構成細胞である血管内皮細胞と壁細胞(血管平滑筋細胞およびペリサイト)を選択的に分化誘導し, 最終的に血管としての高次構造を *in vitro* および *in vivo* において構築する

こと、いわば血管の発生過程を再現することに成功した(Yamashita J. et al. Nature, 2000.). この *in vitro* 分化系では、Flk1 陽性細胞を共通の前駆細胞として、内皮細胞、壁細胞、血球細胞が分化し、さらにそれらの細胞が血管としての高次構造を形成する。最近では、中胚葉由来の細胞の一つである心筋細胞も同様に Flk1 陽性細胞から分化誘導できることも明らかにしている。(図)



このように我々の ES 細胞を用いた *in vitro* 分化系は、心血管および血球という循環器系の細胞群を系統的に分化誘導することができ、心血管の発生分化過程を培養下に恣意的に操作しながらしかも経時的に観察できる。従って、この分化系を用いることにより心臓血管の発生分化のメカニズムを細胞レベル、分子レベルで検討し、ノックアウトマウスの形質解析に依存していた分化の分子機構の解析を *in vitro* で行うという新しいアプローチが可能になったと考えられた。

現在、この ES 細胞 *in vitro* 分化系を用いて、以下のようなプロジェクトを遂行及び予定している。

## 1. ES 細胞 *in vitro* 分化系を用いた血管細胞分化・多様化の分子機構の解析

- 1) DNA チップを用いた網羅的血管分化関連遺伝子の同定と RNA 干渉を用いた *in vitro* 遺伝子機能解析系の構築
- 2) 動静脈内皮特異的分化誘導、リンパ管内皮分化誘導と内皮細胞多様化機構の解析

## 2. 誘導血管細胞の血管再生への応用

- 1) 移植におけるドナー細胞の最適な分化段階の決定

分化初期内皮細胞が特異的かつ有効に新生血管に寄与することを明らかにした(Yurugi-Kobayashi T. et al. Blood, 2003).

- 2) 移植細胞の遺伝子修飾による組織への動員、生着効率の改善効果の検討
- 3) 人工生体材料を用いた新しいハイブリッド人工血管の開発

## 3. ES 細胞からの心筋細胞の分化誘導

- 1) 2 次元培養による新しい ES 細胞からの心筋細胞分化誘導法の開発
- 2) 新しい心筋前駆細胞群の同定
- 3) 心筋細胞 *in vitro* 分化系を用いた心筋分化・多様化の分子機構の解析
- 4) 新しい心臓再生治療への応用

## 4. 霊長類 ES 細胞からの心血管分化誘導

- 1) サル ES 細胞からの血管分化誘導

京都大学臨床病態医科学との共同研究により、サル ES 細胞からの血管分化誘導に成功した(Sone M. et al. Circulation, 2003).

- 2) ヒト ES 細胞からの血管分化誘導

京都大学臨床病態医科学申請の輸入ヒト ES 細胞を用いた血管分化研究に参画し、日本最初のヒト ES 細胞分化研究を開始している。現在ヒト ES 細胞からの血管分化系を構築している。

## 3) ヒト ES 細胞からの心筋細胞分化誘導

京都大学再生医科学研究所樹立の国産ヒト ES 細胞を用いた心臓血管分化研究計画を新たに申請し、心臓血管再生へ向けた研究を進めている。

**Main theme of our research :** Elucidation of cellular and molecular mechanisms of cardiovascular development and the application to cardiovascular regeneration using *in vitro* differentiation system of embryonic stem cells (and somatic cells).

Recently, we established a novel *in vitro* vascular differentiation system of ES cells (Yamashita et al. *Nature*, 2000). Using ES cell-derived Flk1 (VEGF receptor-2)-positive mesodermal cells as starting material, we can induce all of the vascular cellular compartments, that is, endothelial cells, mural cells (vascular smooth muscle cells and pericytes) and blood cells. Vessel-like structures of endothelial cell tube with mural cell attachment and blood cell inside are formed from Flk1+ cell aggregates in 3-D culture. Thus, this *in vitro* system should reproduce the early process of vascular development. And we also demonstrated that the transplanted vascular cells induced by this system could contribute to developing vasculature *in vivo*. Moreover, we have succeeded in inducing cardiomyocytes from Flk1+ cells, indicating that all of cardiovascular cellular components could be induced in our *in vitro* differentiation system. (Fig. 1).

## Cardiovascular Differentiation from ES cell-derived Flk1+ cells

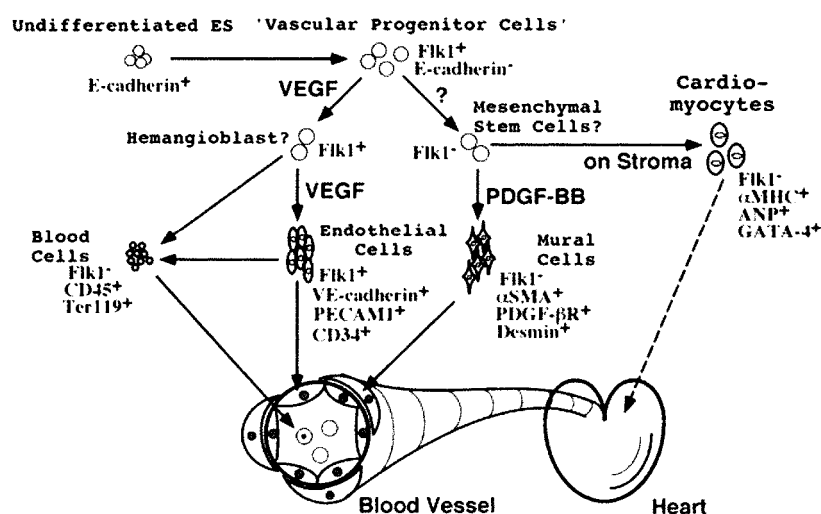


Fig. 1 : Cardiovascular development in ES cell *in vitro* differentiation system

In this system, we can manipulate the fate of cell differentiation, observe the behavior of differentiating cells, purify and obtain cells at various differentiation stages. This system provides us possibilities to dissect the mechanisms of cardiovascular development from new aspects, and offers novel potentials for cardiovascular regeneration.

## Research Projects :

1. Elucidation of cellular and molecular mechanisms of vascular cell differentiation and specification using ES cell *in vitro* differentiation system.
  - 1) Comprehensive molecular cloning of genes for endothelial cell differentiation by global gene expression profile

with DNA chip and a novel *in vitro* functional assay system using vector-based siRNA expression.

- 2) Specific induction of various endothelial cells types (i.e., arterial, venous, and lymphatic) and investigation of the mechanisms for endothelial specification.

## 2. Application of induced vascular cells to vascular regeneration

- 1) Evaluation of appropriate differentiation stage of donor cells for cell transplantation.

We have demonstrated that Flk1+/VE-cadherin+ early endothelial cells specifically contribute to blood vessels as endothelial cells, specifically and efficiently, whereas Flk1+/VE-cadherin-vascular progenitor cells do not, using cell transplantation to mouse tumor angiogenesis model (Yurugi-Kobayashi T., et al. *Blood*, 2003).

- 2) Improvement of the efficacy of recruitment, contribution, and survival of donor cells, by modifying gene expressions in donor cells.
- 3) Development of novel hybrid vessels with ES cells and artificial scaffolds.

## 3. Cardiomyocyte induction from ES cells

- 1) Establishment of a novel cardiomyocyte induction system in 2-dimensional culture

We tried to induce cardiomyocytes from purified Flk1+ cell population in 2-D condition, and finally found that spontaneously beating colonies are efficiently induced when Flk1+ cells are co-cultured with a stroma cell line.

- 2) Identification of novel cardiac progenitor populations
- 3) Dissection of cellular and molecular mechanisms of cardiomyocyte differentiation
- 4) Application to cardiac regeneration

## 4. Cardiovascular differentiation using primates ES cells

- 1) Vascular cell differentiation from monkey ES cells

We have succeeded in vascular cell differentiation from monkey ES cells (Sone M. et al. *Circulation*, 2003) (collaboration with Department of Medicine and Clinical Sciences, Kyoto University Graduate School of Medicine).

- 2) Vascular cell differentiation from human ES cells

We have already started research for vascular development using imported human ES cells as collaboration with Department of Medicine and Clinical Sciences, Kyoto University Graduate School of Medicine. (The first approved human ES cell research in Japan.)

- 3) Cardiomyocyte differentiation using human ES cells

Now we are applying for a research of cardiovascular differentiation using domestic human ES cells to the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan.

## 【業績目録】

### ◆ 誌上発表 ◆

Yamamoto K, Sokabe T, Watabe T, Miyazono K, Yamashita JK, Obi S, Ohmura N, Matsushita A, Kamiya A, Ando J.

Fluid shear stress induces differentiation of Flk-1-positive embryonic stem cells into vascular endothelial cells *in vitro*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, In press.

Kobayashi T, Tahara Y, Matsumoto M, Iguchi M, Sano H, Maruyama T, Arai H, Oida H, Yurugi-Kobayashi T,



Yamashita JK, Katagiri H, Majima M, Yokode M, Kita T, Narumiya S. Roles of thromboxane A2 and prostacyclin in development of atherosclerosis in apoE-deficient mice. **J Clin Invest** 114 : 784-794, 2004.

Yamashita JK. Differentiation and diversification of vascular cells from ES cells. **Int J Hematol** 80 : 1-6, 2004.

Yamashita J, Nishikawa SI. Embryonic stem cell-derived endothelial cells. Springer Lab Manual. **Methods in Endothelial Cell Biology** Chapter 4. p33-p45. Springer-Verlag GmbH, Berlin, New York, Tokyo. 2004.

Suzuki Y, Komi Y, Ashino H, Yamashita J, Inoue J, Yoshiki A, Eichmann A, Amanuma H, Kojima S. Retinoic acid controls blood vessel formation by modulating endothelial and mural cell interaction via suppression of TIE2 signaling in vascular progenitor cells. **Blood** 104 : 166-169, 2004.

#### 和文総説

山下 潤. 「血管壁の構造と発生」血管不全フロンティア, 野出孝一編, 35p-44p, 2004. メディカルレビュー社

山下 潤. 「niche における未分化性の維持」遺伝子医学 MOOK 「再生医療へのブレイクスルー」田畑泰彦編, 94 p-99p, 2004. メディカルドゥ社

山下 潤. 「ヒト ES 細胞分化誘導と移植への応用」細胞工学, 23 : 1264-1267, 2004. 秀潤社

山下 潤. 「ES 細胞を用いた血管再生の今後の展開」わかる実験医学シリーズ「血管研究がわかる」高倉伸幸編, 123p-128p, 2004. 羊土社

小室一成, 山下 潤, 桜田一洋, 梅澤明弘. 座談会「細胞移植の現状と課題」治療学, 38 : 89-100, 2004. ライフサイエンス出版

山下 潤. 「再生医療と血管分化制御機構」分子血管病, 5 : 36-43, 2004. 先端医学社

山下 潤. 「ES 細胞を用いた血管形成」メディカル・サイエンス・ダイジェスト, 30 : 12-15, 2004. ニューサイエンス社

---

#### ◆ 学会等の発表 ◆

##### 1) 学会・研究会発表

山下 潤 : Cardiovascular development in ES cell in vitro differentiation system. 心血管幹細胞研究会(2004.1.16-17. 東京)

Yurugi-Kobayashi T, Itoh H, Schroeder T, Nakao K, Nishikawa SI, Yamashita JK : Induction of arterial and venous endothelial cells from ES cell-derived vascular progenitor cells. American Heart Association Scientific Meeting, (2004.11.8, New Orleans. USA)

Yurugi-Kobayashi T, Schroeder T, Itoh H, Nakao K, Nishikawa SI, Yamashita JK : Arterial-venous specification from ES cell-derived vascular progenitors by VEGF, Notch, and cyclic AMP signaling. The 17<sup>th</sup> Naito Conference on Molecular Basis for Maintenance and Differentiation of Stem Cells. (poster)(2004.11.16-19. 神奈川)

##### 2) 講演・シンポジウム

山下 潤 : ES 細胞を用いた心血管分化誘導と心血管再生, 第 3 回日本再生医療学会シンポジウム「細胞組織構築再生へ」(2004.3.24. 千葉)

山下 潤：胚性幹(ES)細胞と心血管再生，近畿化学協会バイオ部会セミナー「再生医療の現状と必要な研究と技術」(2004.6.23. 大阪)

Yamashita J. : Signaling for vascular cell differentiation and diversification. International Satellite Symposium, 77<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japan Endocrine Society, (2004.6.27. 京都)

山下 潤：血管細胞分化および動静脈分化の機構．第 36 回日本動脈硬化学会モーニングセミナー 4「血管生物学と動脈硬化」(2004.7.24. 福岡)

山下 潤：ES 細胞と心血管再生，第 3 回愛媛ハートクラブ(特別講演)(2004.10.30. 松山)

Yamashita JK. : Vascular cell differentiation and diversification in ES cell system. The 4<sup>th</sup> Fukuoka International Symposium on Medical Sciences. (2004.11.19. 福岡)

Yamashita JK. : Cellular and molecular mechanisms of arterio-venous specification. International Society for Heart Research, The 21th Annual Meeting of the Japan Section. (2004.11.24. 甲府)

---

## 幹細胞加工研究領域 Laboratory of Stem Cell Engineering

分野主任 多田 高  
Assoc. Prof. Takashi Tada

### 【研究概要】

体細胞はその世代を支えるために特殊化した細胞である。ゲノム再プログラム化とは、すでに運命づけられた体細胞のエピジェネティクスを変化させ、その記憶を未分化細胞様に変換する事により多能性を獲得する現象である(図 1)。体細胞核移植クローン動物が成功例として知られるが、我々は世界に先駆け体細胞と胚性幹(ES; Embryonic Stem)細胞との細胞融合により体細胞核が再プログラム化され多能性を獲得することを発見した。我々は、1) ゲノム再プログラム化分子機構の解明、2) 体細胞由来個人対応型(テラーメイド)幹細胞の作製をめざして鋭意研究を進めている。

体細胞ゲノムと ES 細胞ゲノムを区別する目的で、マウス垂種間融合細胞を実験に用いている。垂種間融合細胞由来の分化細胞では再プログラム化体細胞ゲノムから組織特異的な遺伝子発現が確認され、その分化方向や遺伝子発現は由来する体細胞の性質に非依存的であることを明らかにした。また、体細胞核のゲノム再プログラム化に伴い、体細胞特有の堅いクロマチンがゲノム全体で変化し、未分化細胞では緩いクロマチンが形成されることをヒストンのメチル化修飾の解析から明らかにした。これらの結果から、ゲノム再プログラム化機構に関して、体細胞エピジェネティクスの消去と未分化細胞エピジェネティクスの確立の 2 段階説を提唱し、それぞれのプロセスに働く機構や因子の解析を行っている。未分化エピジェネティクスの確立に働く因子として、近年同定された Nanog 遺伝子の特性解析を行った。ホメオドメインをもつ転写因子である Nanog は未分化細胞に高い特異性をもって発現しており、細胞の未分化性維持においても、ゲノム再プログラム化においても必須の役割を果たすことが明らかになった。

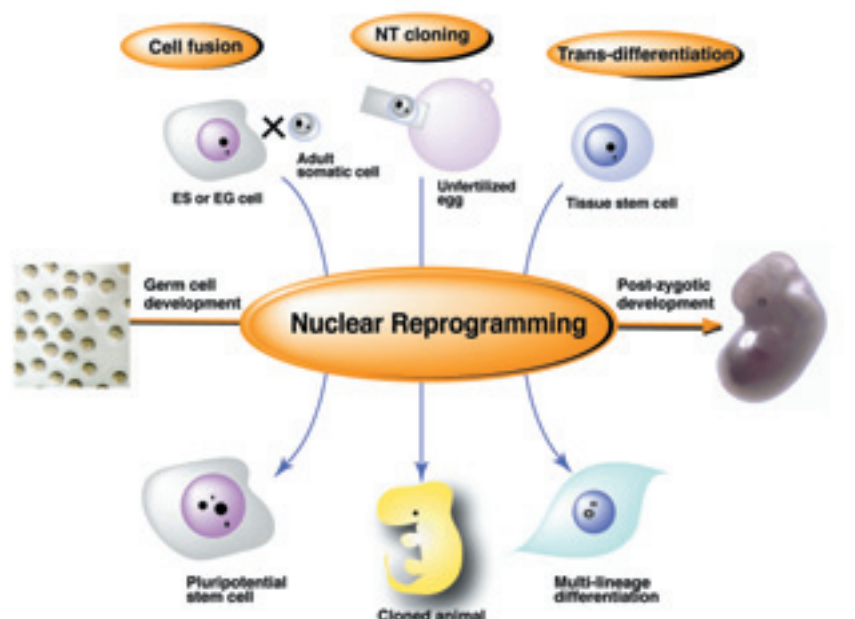


図 1. ゲノム再プログラム化(Nuclear Reprogramming)の概要

Our body is built by an incredible variety of cell and tissue types, which develop from a single fertilized egg through embryogenesis. Those cells are basically classified into two types of cells ; somatic cells and germ cells. Somatic cells function in forming and maintaining body parts only for the one generation, while germ cells including gametes and their precursor cells are diversified for transmitting genetic and epigenetic information to the next generation. It has been shown that determination of cell fate is epigenetically regulated through activation or repression of specific genes. Nuclear reprogramming is a phenomenon that a specialized somatic cell acquires pluripotential competence, which is defined by multi-lineage differentiation, due to reset of epigenetic memory of the somatic cell. Recent development of a technology of embryo manipulations achieves epigenetic reprogramming by nuclear transplantation of a somatic cell to enucleated oocytes as seen by production of cloned animals in many species. We found that embryonic stem (ES) cells, which have the robust capability of self-renewal with pluripotency under culture conditions, retain the nuclear reprogramming activity as shown by cell hybridization with a somatic cell. Cell hybridization technology may, therefore, have potential to make an important contribution to personal therapeutic applications without the need for cloning.

To evaluate the full potential of a reprogrammed somatic genome, we have generated inter-subspecific hybrid cells with *Mus musculus domesticus* ES cells and *M. m. molossinus* somatic cells or *vice versa*, in which frequent DNA sequence polymorphisms allow us to monitor the origin of gene expression. Consequently, it has been revealed that the reprogrammed somatic genome has gained nuclear competency for transcription of mRNAs specific to various types of tissues derived from the hybrid cells. Thus, it is likely that the reprogrammed somatic genomes function equivalent to the ES genomes in differentiated cells. In the next, to understand molecular mechanism of the nuclear reprogramming, changes of chromatin structure of somatic nuclei after cell hybridization with ES cells were analyzed by immunocytochemical and chromatin immunoprecipitation assays. We have demonstrated that the acquisition of pluripotential competence by a reprogrammed somatic genome is accompanied, independent of gene activity, by global de-condensation of the somatic cell-derived chromatin. This is most clearly marked by hyper-di-methylation at histone H3 lysine 4. We

have proposed that this erasure of somatic cell-specific histone modifications is a crucial step in the induction of successful nuclear reprogramming. To acquire pluripotency on the reprogrammed somatic genome, pluripotential cell-specific genes function for establishment and maintenance of a pluripotential state-specific epigenotype. Homeodomain-bearing transcriptional factor, *Nanog* is a newly identified pluripotential cell-specific genes. Our data clearly demonstrated that *Nanog* was essential for maintaining pluripotency of stem cells and inducing successful nuclear reprogramming of somatic nuclei through cell fusion and nuclear transplantation.

## 【業績目録】

### ◆ 誌上発表 ◆

#### 1) 原著論文

- Kuroda, T., Tada, M., Kubota, H., Kimura, H., Hatano, S., Suemori, H., Nakatsuji, N., Tada, T. : Octamer and Sox elements are required for transcriptional cis-regulation of *Nanog* gene expression. *Mol. Cell. Biol.* *in press* (2005)
- Hatano, S., Tada, M., Kimura, H., Yamaguchi, S., Kono, T., Nakano, T., Suemori, H., Nakatsuji, N., Tada, T. : Pluripotential competence of cells associated with *Nanog* activity. *Mech. Dev.* **122** : 67-79(2005)
- Kimura, H., Tada, M., Nakatsuji, N., Tada, T. : Histone code modifications on pluripotential nuclei of reprogrammed somatic cells. *Mol. Cell. Biol.* **24** : 5710-5720(2004)
- Tada, T., Kimura, H., Tada, M. : Epigenetic reprogramming and Nuclear reprogramming. *J. Mam. Ova Res.* (Review), **21** : 97-104(2004)
- Ohhata, T., Tachibana, M., Tada, M., Tada, T., Sasaki, H., Shinkai, Y., Sado, T. : X-inactivation is stably maintained in mouse embryos deficient for histone methyl transferase G9a. *Genesis* **40** : 151-156(2004)

#### 2) 著 書

- Tada, M., Tada, T. : Electrofusion : Nuclear reprogramming of somatic cells by cell hybridization with pluripotential stem cells. In “Cell Biology : A Laboratory Hand Book, 3<sup>rd</sup> Edition”(Celis, J. ed) : *in press*, Academic Press, USA
- Tada, M., Tada, T. : Electrofusion with ES cells induces epigenetic reprogramming of somatic genomes. In “Methods in Molecular Biology/Methods in Molecular Medicine PART II : Methods of Nuclear Reprogramming In vitro” : *in press*, Humana Press, USA
- Tada, M., Tada, T. : Nuclear Reprogramming of Somatic Nucleus hybridized with ES cells by electrofusion. In “Nonhuman Embryonic Stem Cell Protocols” : *in press*, Humana Press, USA
- 多田 高：多能性幹細胞とゲノム再プログラム化：再生医療応用を目指して。「再生医療へのブレイクスルーー医学から医療へー必要なものと今後の方向」(田畑泰彦編集，遺伝子医学，メディカルドウ，大阪) **26-31**(2004)

#### 3) 総 説

- 多田 高：生殖細胞形成過程における核内エピジェネティクスの再プログラム化. 分子細胞治療 **3** 巻 **2** 号先端医学社(2004)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

三瀬名丹, 杉本道彦, 小早川智, 池 郁生, 多田 高, 野瀬俊明, 阿部訓也: マウス胚性幹細胞および始原生殖細胞の包括的遺伝子発現解析. 日本発生生物学会第 37 回大会(2004.6.4-6. 名古屋)

Kuroda, T., Tada, M., Kubota, H., Kimura, H., Hatano, S., Suemori, H., Nakatsuji, N., Tada, T.: Regulatory element required for on-off switching of pluripotential cell-specific *Nanog* expression. 13<sup>th</sup> Conference of International Society of Differentiation(2004.9.5-9. Hawaii, USA)

Mise, N., Sugimoto, M., Fuchikami, T., Kobayakawa, Fumio Ike, F., Tada, T., Noce, T., Abe, K.: A microarray analysis of gene expression in mouse primordial germ cells, in vitro formed PGC and embryo-derived stem cells. CSH meeting on Germ Cells(2004.10.13-17. Cold Spring Harbor, USA)

黒田貴雄, 多田政子, 久保田広志, 木村博信, 秦野慎矢, 末盛博文, 中辻憲夫, 多田 高: 未分化性維持因子 *Nanog* の転写制御機構. 日本遺伝学会第 76 回大会(2004.9.27-29. 大阪)

秦野慎矢, 多田政子, 木村博信, 山口新平, 河野友宏, 仲野 徹, 末盛博文, 中辻憲夫, 多田 高: 転写因子 *Nanog* に制御される胚性幹細胞の未分化性. 日本分子生物学会第 27 回大会(2004.12.8-11. 神戸)

黒田貴雄, 多田政子, 久保田広志, 木村博信, 秦野慎矢, 末盛博文, 中辻憲夫, 多田 高: Octamer/Sox 配列が *Nanog* の転写を制御する. 日本分子生物学会第 27 回大会(2004.12.8-11. 神戸)

山口新平, 木村博信, 多田政子, 中辻憲夫, 多田 高: 幹細胞特異的遺伝子 *Nanog* の生殖細胞系列での発現パターン. 日本分子生物学会第 27 回大会(2004.12.8-11. 神戸)

湖上拓也, 三瀬名丹, 杉本道彦, 小早川智, 池 郁生, 多田 高, 野瀬俊明, 阿部訓也: マウス胚性幹細胞および始原生殖細胞における遺伝子発現の包括的解析. 日本分子生物学会第 27 回大会(2004.12.8-11. 神戸)

Ohhata, T., Tachibana, M., Tada, M., Tada, T., Sasaki, H., Shinkai, Y., Sado, T.: X-inactivation is stably maintained in mouse embryos deficient for histone methyl transferase G9a. 日本分子生物学会第 27 回大会(2004.12.8-11. 神戸)

2) 講演・シンポジウム

多田 高: ゲノム再プログラム化の分子機構: 体細胞核から多能性細胞核へ. 岡山大学医学部セミナー(2004.2.24. 岡山)

多田 高: ES 細胞との細胞融合による体細胞核の初期化機構. 特定領域公開シンポジウム「幹細胞の可塑性と未分化維持機構」(2004.4.27-28. 東京)

Tada, T.: Epigenetic reprogramming of somatic nuclei by hybridization with embryonic stem cells. 128<sup>th</sup> Nobel Symposium “Epigenetic Reprogramming in Development and Disease”.(2004.6.19-21. Stockholm, SWEDEN)

多田 高: 体細胞核の幹細胞化: 分子メカニズムと再生医療応用. 再生研セミナー(2004.7.8. 京都)

Tada, T.: Molecular mechanisms of nuclear reprogramming of stem cells. 3<sup>rd</sup> International Stem Cell meeting. (2004.9.15-16. Shenyang, CHINA.)

Tada, T.: Molecular mechanisms of epigenetic reprogramming of somatic nuclei. The 17<sup>th</sup> Naito Conference on “Molecular Basis for Maintenance and Differentiation of Stem Cells [I]”(2004.11.16-19. Kanagawa, JAPAN)

Tada, T.: Epigenetic reprogramming and nuclear reprogramming. Joint Forum-IFMS, IMEG, CDB-(2004.11.22. 神

戸)

多田 高：細胞融合による体細胞核再プログラム化の分子機構. 国立成育医療センターセミナー(2004.12.20. 東京)

## 附属ナノ再生医工学研究センター

### ナノバイオメカニズム研究領域 Department of Nano-Biomechanism

分野主任 池内 健

*Prof. Ken Ikeuchi*

#### 【研究概要】

医療の目的は単に病気を治療することではなく、本来の機能と生活の質を再生させることである。本分野では、機械工学を医療に応用して、生体本来の機能を再建するための医療技術を開発・研究しており、その内容は関節と血管内治療に大別される。前者に関しては整形外科医と協力して、再生軟骨と人工関節用セラミックスの計測・評価・診断を行った。後者に関しては医療機器メーカー、循環器系医師と共同開発し冠動脈用ステントの臨床治験を終えるとともに、脳動脈用カテーテルの患部への誘導技術を開発した。以下に個々の研究テーマを示す。

#### 1. 血管内治療におけるステント拡張過程のシミュレーション

冠動脈狭窄の治療法の中で血管内治療はバイパス手術より低侵襲であるが、ステントを風船によって拡張させる場合、拡張時に血管壁が損傷すると再び狭窄する確率が高くなる。そこでステントの拡張時における血管壁の応力分布を有限要素法によって調べた。その結果、ステントのビームが交差する部分と端部に接触する血管内壁で径方向の圧縮応力が高い一方でビームの無い部分では円周方向の引張り応力が高いことを明らかにした。また偏心性の狭窄を有する血管を拡張するときには壁面の応力が極めて高いことがわかった。以上より、病態に応じて拡張時における血管の損傷を最小限に留めるステントの形状を明らかにした。

#### 2. 脳卒中治療用カテーテルの頭蓋内におけるナビゲーション

脳出血や脳梗塞の治療のために開頭を必要としない血管内治療が普及しつつあるが、このような低侵襲治療は術者の高度な熟練と勘に頼るため、術者が未熟であれば危険が伴うことになる。そこでカテーテルの挿入と治療をより安全にするために、先端部に装着した微小な磁石(直径 2mm)によって形成される磁界を体外に設置した 15-24 個の磁気センサーによって計測するシステムを開発した。センサーの情報をもとにニューロコンピューター技術によって 3 次元空間におけるカテーテル先端の位置と姿勢角を高精度で測定することができた。

#### 3. 超音波による軟骨変性の早期発見法

生体組織の物性を計測するために超音波パルスの反射波をウェーブレット変換する解析法を開発した。軟骨表面からの反射波強度と力学特性の相関関係を調べて動的弾性率、不均質性、厚さを正確に推定することにより、変形性関節症の原疾患である軟骨の変性を測定できる技術確立し、移植軟骨や再生軟骨の機能を評価した。また試作した超音波関節鏡を臨床診断に応用して軟骨変性の早期発見が可能となり、変形性関節症治療への一歩が始まった。

#### 4. 軟骨表面の計測による関節潤滑機構の解明

軟骨をガラスまたは金の平面上ですべらせ、界面から 100nm 以内の成分をエバネセント光によって調べた。正常な軟骨では多量の水を含むコンドロイチン硫酸が存在するために低摩擦状態が保たれていた。一方、表面水和層を除去した軟骨ではコラーゲンが表面に露出しているため高摩擦であった。軟骨表面の水和層が潤滑に重要な役割を果たすことを実証し、軟骨表面を構成する成分を測定することによって編成を早期診断できる可能性を示し、変

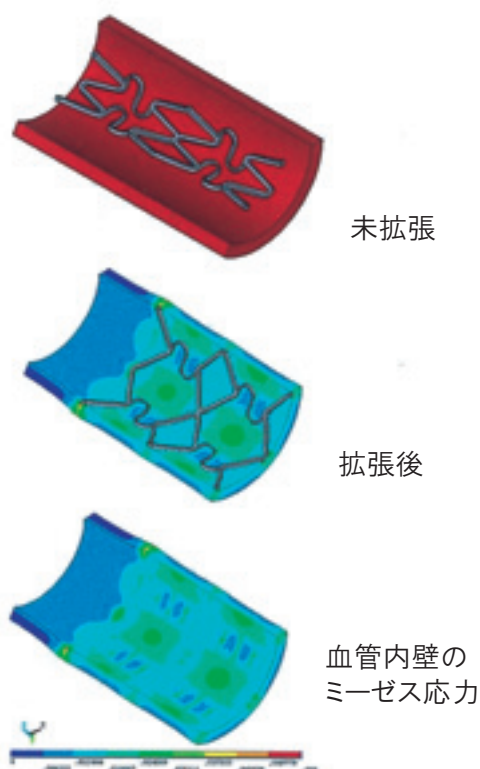
形性関節症の治療法の開発について一步を踏み出した。

#### 5. セラミック／セラミック人工関節の摩耗試験

セラミックは耐摩耗性が高いだけでなく、ポリエチレンのように生体反応が生じにくい。しかし時に割れ、欠け、剥離が生じて早期に抜去、交換する必要がある。安全性の高い人工関節を実現するためには脱臼などの異常な事態を想定した試験が必要である。そこでセラミック／セラミック人工股関節においてソケットのエッジと骨頭の接触を想定した摩耗試験機を開発して応力集中下におけるセラミックの摩耗機構を調べて耐摩耗性と信頼性を評価するとともに、摩耗試験に関する標準規格の原案を示した。

#### 6. 歯科口腔機能の再生のための補綴物製作システムに関する研究

高齢化等による歯科口腔機能の損傷および低下の再生に用いられる補綴材料は生体親和性の良い材質のものが用いられるが、その加工法はしばしば困難であることがある。そこで、このような材料の成形加工法を追求し、生物学的適合性、力学的適合性および形態的適合性に優れた歯科補綴物の製作システムについて研究している。



冠動脈におけるステント拡張過程のシミュレーション。端部では圧縮応力集中が生じ、ビームの無い部分では血管壁が引っ張られる。これらの応力が血管再狭窄の原因になりうる。

The main goal of medical therapy is not only to cure diseases but also to reproduce the original function and high quality of life. In the division of Nano-Biomechanism we have studied and developed new technologies to reconstruct the inherent ability of human being by applying mechanical engineering to medical therapy. To cure diseases in human joints, new technologies were developed to measure, assess and diagnose articular cartilage in cooperation with orthopedic surgeons. For intravascular treatment, we have completed clinical test of new coronary stent in cooperation with cardiovascular physicians and a maker of medical devices. Technologies to navigate catheters to intracranial arteries are also developed.

The research activities of the Department of Biomechanical Engineering in 2004 are summarized as follows :

#### 1. Computer simulation of expanding process of coronary stents

In the treatment of coronary stenosis, intravascular surgery is less invasive than conventional bypass surgery. The main problem of stenting is re-stenosis caused by injury due to excessive stress during expansion. Therefore, we investigated the mechanism of vascular injury by means of finite element analysis and experiment. The result shows that high compressive stress arises at the inner surface of the artery contacting the cross points of the stent beams and the ends of the stents, while high circumferential tensile stress arises in the artery wall separated from the beams. The result also shows that extremely high stress may be caused in the case of eccentric stenosis. Thus the design criteria were found to minimize vascular injury during expansion in order to reduce restenosis.

#### 2. Magnetic system for navigating intracranial catheter

We have developed a system to measure position and attitude angle of intracranial catheter for intravascular treat-



ment. The magnetic field from a miniature magnet (2 mm in diameter) at the top of the catheter was measured with highly sensitive 15–24 probes located out of the body. Neuro-computing technology was used to estimate location of the catheter from the magnetic field.

### 3. Ultrasonic measurement to detect cartilage degeneration in early stage

We have settled a new method with wavelet transform to measure surface properties of tissues, and applied it to experiments and diagnoses. Dynamic modulus of elasticity, heterogeneity and thickness of articular cartilage were measured by use of ultrasonic pulse based on the correlation between the reflected wave and the mechanical properties. The properties and functions of regenerated and grafted cartilage were also measured and the results were compared to each other. In clinical application, the arthroscope with ultrasonic probe could detect softening of cartilage associated with degeneration and it has become possible to find osteoarthritis before the syndrome appears.

### 4. Study of joint lubrication in terms of surface condition

In a human body, slippery surface layers exist on articular cartilage, tendon/sheath interface and intestine wall lubricating and protecting the tissue from injury. Constituents of articular cartilage sliding with glass or gold were measured within the range of 100 nm from the interface by use of evanescent waves. The result shows that chondroitin sulfate contributes to the low friction of intact articular cartilage while friction of cartilage without surface layer is high due to adhesion of collagen fibers exposing to the surface. Thus the lubrication mechanism of the surface layer was clarified and possibility of early diagnosis of cartilage degeneration is shown.

### 5. Wear test for ceramic/ceramic joint prostheses

Though ceramics has high wear resistance and they scarcely cause biological response, ceramic/ceramic joint sometimes experiences fracture, pitting or particle separation followed by early loosening. Therefore, wear test simulating extreme condition such as joint dislocation or micro-separation is necessary to realize safe and highly reliable prostheses. In this study, a new apparatus for wear test simulating concentrated contact between the socket edge and the femoral head in a ceramic/ceramic hip joint was designed and wear properties of ceramics under concentrated contact pressure were investigated. This wear test is proposed to be a prototype of standard wear test.

### 6. Development of materials processing systems for dental prostheses

Materials processing systems, especially for metal materials, in a dental field are investigated. The purpose of this study is to reproduce the oral function by establishing production systems of dental prostheses, which have excellent biological-, medical- and morphological-compatibility.

## 【業績目録】

### ◆ 誌上発表 ◆

#### 1) 原著論文

Hattori, K., Takakura, Y., Ishimura, M., Habata, T., Uematsu, K., Ikeuchi, K., : Quantitative arthroscopic ultrasound evaluation of living human cartilage. Clin. Biomech. 19 : 213–216 (2004)

Hattori, K., Takakura, Y., Morita, Y., Takenaka, M., Uematsu, K., Ikeuchi, K., : Can ultrasound predict histological findings in regenerated cartilage?. Rheumatology. 43-3 : 302–305 (2004)

K. Hattori, Y. Takakura, H. Ohgishi, T. Habata, K. Uematsu, M. Takenaka, K. Ikeuchi, : Which cartilage is regenerated,

hyaline cartilage or fibrocartilage? Non-invasive ultrasonic evaluation of tissue-engineered cartilage . Rheumatology. 43-9 : 1106-1108(2004)

Kuroki, H., Nakagawa, Y., Mori, K., Ikeuchi, K., Nakamura, T., : Mechanical effects of autogenous osteochondral surgical grafting procedures and instrumentation on grafts of articular cartilage . Am. J. Sports Med. 32-3 : 612-620 (2004)

Kuroki, H., Nakagawa, Y., Mori, K., Ohba, M., Suzuki, T., Mizuno, Y., Ando, K., Takenaka, M., Ikeuchi, K., Nakamura, T., : Acoustic stiffness and change in plug cartilage over time after autologous osteochondral grafting : correlation between ultrasound signal intensity and histological score in a rabbit model . Arthritis Res Ther 2004. 6 : 492-504(2004)

竹中 慎, 服部耕治, 大橋徹夫, 森田有亮, 森 浩二, 高倉義典, 池内 健 : 酵素による関節軟骨変性の超音波を用いた評価. 日本臨床バイオメカニクス学会誌. 25 : 79-84(2004)

大橋徹夫, 服部耕治, 竹中 慎, 森田有亮, 森 浩二, 高倉義典, 池内 健 : 超音波反射波解析による軟骨変性の定量評価ー靱帯切除・半月版摘出 OA モデルを用いた実験的検証ー. 日本臨床バイオメカニクス学会誌. 25 : 85-90(2004)

都賀谷紀宏, 友西康輔, 山本吉保, 小田切朋和, 北見賢司, 朱 可希, 森 茂光, 橋野利一, 久保文信, 平岩健介, 岩川泰平, 中谷幸一, 松永 章, 風間堅一, 塚原敏彦 : 銀合金の歯科鑄造における適正鑄型温度を探る. 歯科技工. 32 : 1368-1383(2004)

## 2) 著 書

都賀谷紀宏 : 歯科用金属レーザー溶接の基礎. 「歯科用レーザー・21 世紀の展望(パート 2)」(森岡俊夫編, クインテッセンス出版, 東京)210-215(2004)

## 3) 総 説

池内 健 : バイオトライボロジーの現状と今後. 月刊トライボロジー. 197 : 26-28(2004)

池内 健, 豊田一実 : 磁気による頭蓋内カテーテルの位置計測. 画像ラボ. 6 : 29-32(2004)

都賀谷紀宏 : What is welding?. QDT. 29 : 44-47(2004)

都賀谷紀宏 : 歯科理工学から見たチタンと歯科技工の“いま”. 歯科技工. 32 : 1390-1395(2004)

都賀谷紀宏 : チタンが紡ぐ金属材料の未来. 歯科技工. 32 : 1652-1660(2004)

## ◆ 学会等の発表 ◆

### 1) 学会・研究会発表

Ikeuchi, K., Mackova, H., Morita, Y. : Wear process under concentrated contact in alumina /alumina hip joint . 31<sup>st</sup> Leeds-Lyon Symposium on Tribology(2004.9.7-10. Leeds)

Yoshinaka, K., Takashima, K., Okazaki, T., Ikeuchi, K., Chinzei, K., Washio, T. : Surface friction of internal medical instrument controlled by magnetic field oscillation. 1<sup>st</sup> International Conference on Advanced Tribology 2004 (2004.12.1-3. Singapore)

森 浩二, 丸山和宏, 中山 敦, 池内 健, 岩田博夫, 光藤和明, 斎藤 俊 : ステント構造が柔軟性におよぼす影

- 響の数値解析的評価. 日本機械学会 第16回バイオエンジニアリング講演会(2004.1.22-23. 北九州)
- 岡崎友樹, 豊田一実, 葭仲 潔, 寺田大樹, 池内 健: 磁気センサとニュートラルネットワークを用いたカテーテルナビゲーションシステム. 日本機械学会 第16回バイオエンジニアリング講演会(2004.1.22-23. 北九州)
- 竹中 慎, 大橋徹夫, 名嘉マルコ寛, 服部耕治, 幅田 孝, 高倉義典, 池内 健: 超音波反射波を用いた関節軟骨変性の評価法. 日本機械学会 第16回バイオエンジニアリング講演会(2004.1.22-23. 北九州)
- Takashima, K., Okazaki, T., Toyoda, K., Kitou, T., Yoshinaka, K., Ikeuchi, K. : Magnetic sensor system for determining position and orientation of an endocranial catheter tip. The First Asian Pacific Conference on Biomechanics (2004.3.25-28. Osaka)
- 高嶋一登, 葭仲 潔, 池内 健: 画像処理を用いた内視鏡用触覚センサの試作. 日本機械学会 第15回バイオフロンティア講演会(2004.11.6-7. 宇部)
- 高嶋一登, 葭仲 潔, 池内 健: 内視鏡用光学式触覚センサに関する研究. 第31回日本臨床バイオメカニクス学会(2004.11.12-13. 福岡)
- Takashima, K., Kitou, T., Terada, H., Yoshinaka, K., Ikeuchi, K. : Contact and friction between catheter and blood vessel. 1<sup>st</sup> International Conference on Advanced Tribology 2004(2004.12.1-3. Singapore)
- 名嘉マルコ寛, 竹中 慎, 大橋徹夫, 服部耕治, 宮崎 潔, 幅田 孝: 損傷した関節軟骨における潤滑の研究. 日本機械学会 第16回バイオエンジニアリング講演会(2004.1.22-23. 北九州)
- Naka, M, H., Arima, Y., Iwata, H., Hasuo, M., Fuwa, Y., Morita, Y., Ikeuchi, K. : A novel technique for evaluation of articular cartilage lubrication based on the surface plasmon resonance. 31<sup>st</sup> Leeds-Lyon Symposium on Tribology (2004.9.7-10. Leeds)
- 名嘉マルコ寛, 服部耕治, 池内 健: Experimental diagnosis of articular cartilage using one apparatus based on evanescent waves. 第31回日本臨床バイオメカニクス学会(2004.11.12-13. 福岡)
- Naka, M, H., Hasuo, M., Fuwa, Y., Ikeuchi, K. Correlation between friction of articular cartilage and reflectance intensity from superficial images. 1<sup>st</sup> International Conference on Advanced Tribology 2004(2004.12.1-3. Singapore)
- 鬼頭孝之, 世宮俊輔, 池内 健: ステンツ拡張による血管壁との接触圧力の有限要素解析. 日本機械学会 第16回バイオエンジニアリング講演会(2004.1.22-23. 北九州)
- 鬼頭孝之, 高嶋一登, 森 浩二, 池内 健: ステンツの拡張時における血管壁との接触シミュレーション. 日本機械学会 第15回バイオフロンティア講演会(2004.11.6-7. 宇部)
- 寺田大樹, 豊田一実, 村永陽介, 高嶋一登, 葭仲 潔, 池内 健: 磁気センサを用いたカテーテルの位置計測システムの開発. 日本機械学会 第15回バイオフロンティア講演会(2004.11.6-7. 宇部)
- 鄭 徳泳, 堤 定美, 中井隆介, 池内 健, Sekel, R. : Biomechanical simulation of periprosthetic bone - remodeling caused by high compressive stresses after cementless THA part 1 : femur stem. 第31回日本臨床バイオメカニクス学会(2004.11.12-13. 福岡)
- 鄭 徳泳, 堤 定美, 中井隆介, 池内 健, Sekel, R. : Biomechanical simulation of periprosthetic bone - remodeling caused by high compressive stresses after cementless THA part 2 : acetabular cup. 第31回日本臨床バイオメカニクス学会(2004.11.12-13. 福岡)
- 姜 有峯, 田中正利, 鄭 徳泳, 堤 定美, 池内 健: 三次元有限要素モデルを用いた車両追突時の頸部三次元挙動に関する数値シミュレーション. 第31回日本臨床バイオメカニクス学会(2004.11.12-13. 福岡)

塚本篤史, 坂口一彦, 玄 丞然, 松村和明, 池内 健, 堤 定美, 速水 尚, 森田有亮: 人工関節軟骨材料 **poly(vinyl alcohol)hydrogel** の摩擦・摩耗に及ぼすモロフォロジーの影響. 第 31 回日本臨床バイオメカニクス学会 (2004.11.12-13. 福岡)

熊谷一星, 玄 丞然, 速水 尚, 松村和明, 森田有亮, 池内 健: 人工関節軟骨用 **poly(vinyl alcohol)hydrogel** のトライボロジ特性における  $\gamma$  線照射の影響. 日本機械学会 第 16 回バイオエンジニアリング講演会 (2004.1.22-23. 北九州)

都賀谷紀宏: 歯科用金属のレーザー溶接のためのパルス波形制御(第 2 報)追加レーザーパワーの大きさの影響. 第 43 回日本歯科理工学会学術講演会(2004.4.10-11. 千葉)

## 2) 講演・シンポジウム

池内 健: 医療用セラミックスの摩耗試験とその標準化. 第 2 回医療機器フォーラム(2004.10.23. 東京)

都賀谷紀宏: 歯科レーザー溶接への誘い. 第 14 回日本医用歯科機器学会シンポジウム「補綴装置の精度を高める! 歯科技工用レーザー溶接機の応用」(基調講演)(2004.7.11. 大阪)

# シミュレーション医工学研究領域 Department of Medical Simulation Engineering

分野主任 教授 堤 定美

*Prof. Sadami Tsutsumi*

## 【研究概要】

本研究室では、生体組織と力学的に調和する生体材料や人工臓器の開発など生体機能の再生を目的とした診断・治療の支援を行うために、コンピュータ科学や材料工学の手法を用いて、以下のような基礎的ならびに応用的研究を行っている。

### 1. 生体組織の力学的適応変形に関するシミュレーション

生体組織の力学的特性の解明を基本として、特に骨のモデリングならびにリモデリング現象など生体組織の力学的合理性の適応変形過程などについて数値シミュレーションを行っている。その結果、等応力分布あるいは等歪エネルギー密度分布などの制約関数に従って、各種骨組織の形態が形成されていることが示唆され、この制約の下に、生体組織と力学的に調和する人工関節等のインプラントのデザインの創生を試みている。(新エネルギー・産業技術総合開発機構助成金および NITE との共同研究)(厚生労働省科学研究費補助金)

### 2. 人工歯根周囲における歯根膜の再生

現在の人工歯根は、天然歯根のように歯根膜を持たず、直接顎骨に固定させるので、咀嚼時の動的荷重が緩衝されず直接顎骨に伝わる。その結果、歯槽骨に過大な応力が発生して骨吸収が起り、ゆるみが生じる危険性が高い。そこで、チタン製人工歯根をポリマーで被覆し、表面処理により細胞接着性タンパク質であるコラーゲンを固定化し、さらにその上に歯根膜細胞を培養し、歯根膜ならびにセメント質の再生を図っている。(文部科学省科学研究

費補助金)

3. MR Elastography(MRE)による in vivo 弾性率データの計測、解析および検証

磁気共鳴弾性率計測法(MRE)は、MRI をベースとする新たな測定技術であり、これによる体内組織・器官の非侵襲性弾性率計測の手法を確立し、医療研究支援用の生体組織データベースを構築する。また触感デバイスをを用いた人工現実感(VR)による VR モデルシステムを開発している。(情報学専攻との共同研究)

4. パラレルメカニズム咀嚼ロボット

歯科や外科領域での診断や手術では、人体構造の静的な位置情報だけでなく、動的な運動情報が予後を左右する。運動情報をコンピュータに取り込むためにパラレルメカニズムを採用した多関節アームを開発してきたが、さらに駆動系を組み込んだパラレルロボットを開発し、個々の患者の口腔内模型を咀嚼中に計測した顎運動情報に基づいて運動させるシステムを開発した。

5. 歯冠修復用高強度・高靱性ガラスセラミック材料と加圧成型システムの開発

優れた生体適合性と従来の歯科用ポーセレンよりも 3~4 倍高い曲げ強度と破壊靱性値をもつ Diopside 系ガラスセラミック材料を開発し、900℃ 付近で加熱・加圧成型・結晶化するシステムなど加工性と審美性をも備えた新しい歯冠修復用材料を研究してきており、臨床試験の最中である。

6. 新しい生体材料としてのマグネシウム合金の開発

生体必須のミネラルであり、比強度がもっとも高い金属の一つであるマグネシウムは、体液中でアパタイトの沈着が速やかであり、新生骨との結合と転化に優れた特性を有することを見出しており、生体材料とくに人工骨用材料としての応用を目指している。(京都府中小企業総合センターとの共同研究)

7. 人工関節軟骨・人工椎間板などの医療用ハイドロゲル

関節軟骨が持つ優れた力学的特性を具備した人工関節軟骨材を開発することにより、関節の病変部のみを置換し健全な軟骨下骨梁を残す新しい人工関節軟骨の開発を目指している。当研究室にて新しく開発した高強度・高弾性率ポリビニルアルコールハイドロゲルは人工関節軟骨・椎間板材料として有望である。(医学研究科整形外科学講座との共同研究)

8. 耐摩擦・摩耗特性に優れた人工関節用ポリエチレン

人工関節の摺動部に使用される超高分子量ポリエチレンの摩耗粉により発生する不良肉芽組織が骨吸収を惹起する異物反応が問題となっている。そこで、物理的な改良法により最終成形物に分子配向と結晶面配向を導入することにより、耐摩耗性の改良を試み、良好な結果が得られている。

9. 生体組織と材料の衝撃吸収特性など力学的物性の測定ならびに解析

衝撃解析シミュレーションや生体を模した頸部モデルによる追突実験から、鞭打ち損傷を解明し、安全で快適な自動車シートの開発を試みている。

10. ポリフェノールによる細胞増殖制御と生体組織の長期間保存

緑茶ポリフェノールが種々の動物細胞の増殖を制御でき、細胞に対する無毒性の睡眠剤であることを見いだした。また、冬眠覚醒後ほぼ 100% の細胞が増殖を再開することを明らかにした。更に、ラットの膵島や大動脈が体温で数ヶ月間も保存でき、他のラットへの移植後に正常に数ヶ月間生存することも確認した。現在、ポリフェノールを用い他の組織、例えば、ブタ膝関節軟骨、モルモット歯根膜、及び家兎角膜等に対する長期間保存の検討も行い、良好な結果が得られた。(文部科学省科学研究費補助金)

11. 骨格筋収縮エネルギーを利用した人工心臓駆動システム(筋肉の力学モデルの構築)

患者自身の筋肉を駆動力に用いる「骨格筋ポンプ」と呼ばれる新しいデバイスの開発を目的としている。広背筋

と胸膜の間にバルーンを挟み込み、広背筋に電気刺激を与えて収縮させ、その収縮力を人工心臓の駆動力として有効に利用する。(文部科学省リーディングプロジェクト)

## 12. 生体形態計測システムと手術シミュレーション(顎変形症治療計画支援システム)

顎変形症手術に際しては、患者と術者とが術式の定量的検討と術後の咬合機能と顔貌の改善予測情報を確認して(informed consent)、望むことが極めて重要である。3次元画像を多用した、治療計画支援のためのシステムを開発している。(医学研究科口腔外科学講座および整形外科科学講座との共同研究)

## 13. 人体に優しい義歯床

現在、臨床で広く使用されている義歯床として、加熱重合タイプのポリメチルメタクリレート(PMMA)と、射出成型タイプのポリサルホン(PS)やポリカーボネート(PC)が知られている。加熱重合タイプのPMMAは、重合に伴う収縮率が高く、耐衝撃性等の力学的特性に劣る上、特に残留モノマーが多いため、使用時に残留モノマーの溶出によるアレルギー反応が惹起されることが指摘されており、生体に対する安全性の問題が残っている。

そのため、これに替わる材料としてPSやPCが射出成型用義歯床として使用されるようになって来た。ところがPSは耐衝撃性に劣り、またPCについても、残留モノマーであるビスフェノールが、近年環境ホルモンとしての毒性が大きく取り上げられている。さらにPMMA補修部材としての接着性が悪い為、人体にとって安全で、しかも耐衝撃性等の力学的特性に優れ、残留モノマーが少ない義歯床が切望されてきた。

本研究では、残留モノマーが極めて少なく、刺激や毒性のない人体に優しいのみならず、耐衝撃性や高曲強度で、耐久性に優れた射出成型タイプの義歯床を開発し、臨床の場に提供する準備を行っている。(近畿経済産業局速攻型地域新生コンソーシアム研究開発事業)

## 1. Simulation of Biomechanical Adaptation Process of the Living Tissues.

Numerical simulations are carried out especially on the modeling and remodeling phenomena of the bones as the biomechanical adaptation. With constraint functions such as stress distribution or strain energy density distribution, it is indicated that the form of the bone has been modeled, and the design of artificial dental roots which dynamically harmonizes with the living tissue under this constraint has been tried. (Supported by New Energy and Industrial Technology Development Organization)

## 2. Regeneration of the Periodontal Membrane around Dental Implant Roots.

The present artificial dental root is fixed directly in the alveolar bone without having periodontal ligament like natural tooth root, the stresses are directly transmitted without any damping effect. The excessive stresses in the alveolar bone may arise and cause the bone resorption by which the loosening of the implants occurs. Therefore, we have been attempting that the dental implant made of titanium is covered with a polymer, and the collagen which is the cell adhesive protein is fixed by some surface treatments, and in addition, the periodontal ligament cell is cultivated on the surface for regeneration of the periodontal membrane. (Supported by Ministry of Culture, Science and Education)

## 3. MR Elastography Measurement, Analysis and Verification.

Magnetic resonance elastic modulus measurement method(MRE) of the elastic modulus is a new measuring technique based on the MRI, and it establishes the technique of the noninvasive elastic modulus measurement of the living tissue and organ in vivo. Database construction for the medical research support, and virtual reality(VR) system using the haptic device are investigated. (Joint Research with Information Division, Kyoto University)

#### **4. Kinematic Analysis of a mastication Robot employing the 6-degree-of-freedom parallel mechanism**

Dynamic behaviors of the human body affect the diagnosis or the prognosis of operations in dental and surgery fields. In our laboratory, mastication robot is developed in order to represent the human mandibular dynamics ; i.e. not only kinematics but also pressure acting between jaws. The robot employs the 6-degree-of-freedom parallel mechanism in order to decrease the positional information errors.

#### **5. Development of glass ceramics with high strength and toughness and pressure forming systems for restorative crown materials**

Diopside glass ceramics is known as biocompatibility. Moreover, we have been developing the ceramics to have 3 and 4-fold higher the strength and toughness than the used dental porcelains. The crystallization system with heating and pressure molding is developed and now is running a clinical trial.

#### **6. Development of magnesium alloys as biomaterials.**

Magnesium offers several advantages such as low density, high specific strength to weight ratio, good castability, non-toxic. Moreover, magnesium is an essential element in human body. The present study is carried out to evaluate magnesium in medical and dental applications and to examine its corrosion behavior. (A joint research with Kyoto Fuchu small enterprise and synthesis centers)

#### **7. New Artificial Articular Cartilage and Intervertebral Disk.**

Development of the artificial cartilage and intervertebral disk is necessary in order to recover support and mobility simultaneously in joints and spine which received the damage. We examined the possibility of the application of polyvinyl alcohol hydrogel which can control the mechanical strength by the change of water content and is excellent in the biocompatibility. It replaces only lesion part and leaves the sound subchondral bone. The high strength and high elastic modulus of the polyvinyl alcohol hydrogel newly developed in this department is promising as artificial articular cartilage and intervertebral disk material.

#### **8. Polyethylene for Artificial Joints with High Wear Resistance.**

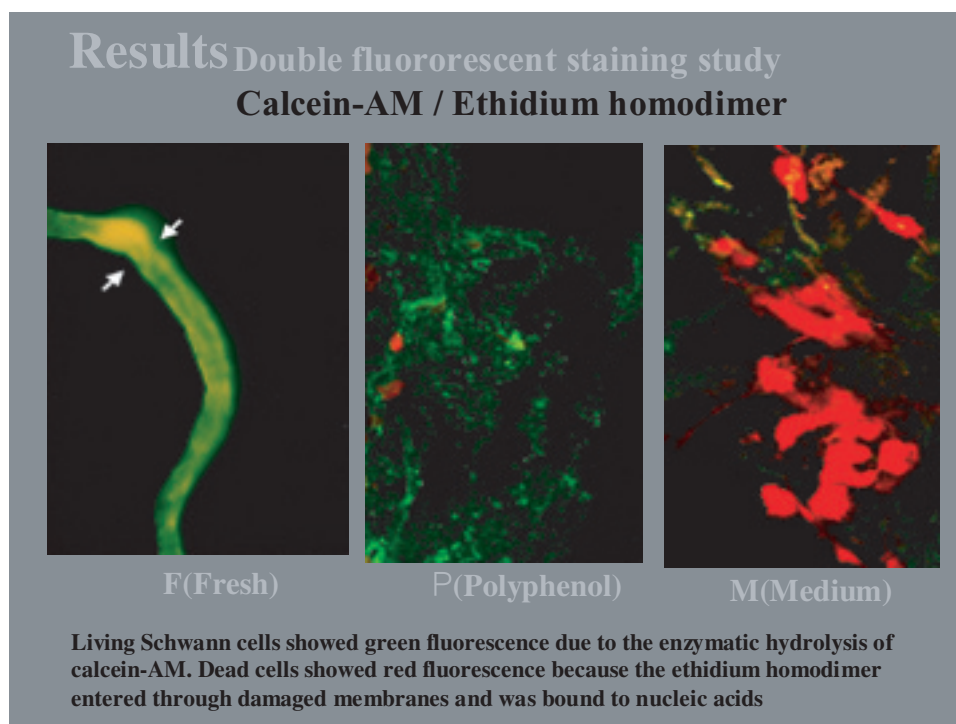
The wear particles of polyethylene are produced by the friction between the metal and UHMWPE when artificial joint used for the long term. It is known that the osteolysis occurs by foreign body granulation tissue which the wear particle induces. The development of new UHMWPE for artificial joint which controlled super structure by the crystallization under molecular orientation is being tried in order to improve abrasion resistance of UHMWPE.

#### **9. Measurement and Analysis of Impact Energy Absorption of the Living Tissues and Biomaterials.**

By computer simulations and experiments with anatomical cervical model in rear-end collision, the generation mechanism of the whiplash injuries is clarified, and the development of the safe automobile sheet is being tried.

#### **10. Proliferation Control of Mammalian Cells and Tissue Preservation for Long Term.**

Ordinary method of cell and tissue storage is employed preserving method by freezing at extra low temperature of  $-196^{\circ}\text{C}$  and original cell is gotten by rapid thawing of frozen cell as needs arises. However, the survival ratios cells after thawing and fusion is low, depending on a kind of cells and examiner's skill, while those of normal and useful cells such as Langerhans islets and liver cells except cancer cell is about 10 to 30%. We are investigating a novel preservation method, which can control the proliferation of various types of cells, and the long-term preservation of various tissue or organs at the physiological temperature using polyphenol as a preservation agent.



#### 11. Mechanical Analysis of the isometric Contraction of the Skeletal Muscles for an Artificial Heart Support. (Construction of Dynamic Model of the Muscle)

Our development of a new device called “skeletal muscle pump” which uses the Latissimus Dorsi muscle for artificial heart drive system using the skeletal muscle contraction has been investigated. A balloon is inserted between the muscle and pleura, and an electric stimulation is given in the muscle to contract, and the shrinkage force is effectively utilized as driving force of the artificial heart. (Reading Project of The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Reading Project)

#### 12. Morphometry System and Operation Simulation (Therapeutic Planning Support System for Jaw Deformities)

In the jaw deformation disease operation, patients and surgeons would like to confirm quantitative evaluation of operative method and improvement of postoperative occlusal function and feature (informed consent). The system for the therapeutic planning support which uses the three-dimensional images abundantly has been developed. (Joint Research with Department of the Oral Surgery and Orthopaedic Surgery Kyoto University)

#### 13. The Gentle Denture Base in Human Body

Today, we are researching and developing novel thermoelastic denture base composed of polymethylmethacrylate (PMMA) as a main component for injection molding. Denture base is generally employed polycarbonate (PC) as thermoelastic resin. However, PC is eluted in one's mouth, bis-phenol A of an environmental pollution, and furthermore, poor adhered to PMMA resin of repair adhesive. Heat-polymerized type PMMA mainly employed as denture base, is eluted in one's mouth a lot of monomer and oligomer, which come from residue product of polymerization, and is anxious to cause an allergy. We are researching and developing novel thermoelastic denture base which overcomes disadvantages of traditional denture resin.



## 【業績目録】

### ◆ 誌上発表 ◆

#### 1) 原著論文

Poly-vinyl alcohol hydrogel vascular models for in vitro aneurysm simulations: the key to low friction surfaces, Makoto. Ohta, Akira Handa, Hiroo Iwata, Daniel A. Rufenacht, Sadami Tsutsumi, Tech. & Health Care, **12**(3), 225-233(2004.)

上西甲朗, 田中正利, 宮本尚紀, 吉田宏昭, 堤 定美: 長時間運転時におけるドライバの筋疲労評価手法の開発, 自動車技術界論文集, **35**(1), 209-214(2004)

Uenishi, K., Tanaka, M., Miyamoto, N., Yoshida, H., Tsutsumi, S.: Development of Muscular Fatigue Evaluation for Automotive Driver, JSAE, **25**(1), 99-104(2004)

Mizuno Y, Nishiguchi S, Okuuchi N, Nakagawa Y, Tsutsumi S, 5, Nakamura T, Azuma T. 3D Weight Bearing MRI Analysis of Meniscal Displacement. International Society for Magnetic Resonance in Medicine 2004, 1488 (2004)

Azuma T, Tsutsumi S, Kutsuki M, Itoh J. TMJ Movement Analysis of Real-Time Ultra High-Speed MRI. J Dental Research, **83**(special A) : 140(2004)

Oida T, Kang Y, Matsuda T, Okamoto J, Azuma T, Takizawa O, Amano A, Tsutsumi S.: Bed-type oscillator for MR Elastography. International Society for Magnetic Resonance in Medicine 2004, 1773C(2004)

Azuma T, Mizuno Y, Ise K, Ito J, Hiramoto Y, Nakamura M, Kutsuki M, Nakagawa Y, Nakamura T, Tsutsumi S: Dynamic 4-Dimensional MRI of Knee Joint Movement Using FLASH 3D VIBE. International Society for Magnetic Resonance in Medicine 2004, 2664(2004)

笈田武範, 姜 有峯, 岡本淳, 東 高志, 瀧澤 修, 天野 晃, 堤 定美, 松田哲也: MR Elastography のためのベッド型加振装置. 日本磁気共鳴医学会誌, **24**: 252(2004)

Ikeguchi, R., Kakinoki, R, Okamoto, T., Matsumoto, T., Hyon, SH., Nakamura, T., : Successful Storage of Peripheral Nerves using Green Tea Polyphenol : an Experimental Study in Rats. Experimental neurology **184**: 688-696 (2004)

Han, DW., Park, YH., Kim, JK., Lee, KY., Hyon, SH., Suh, H., Park, JC., : Effects of Green Tea Polyphenol on Preservation of Human Saphenous Vein. Journal of Biotechnology **110**. 109-117(2004)

Matsumura, K., Hyon, S.-H., Nakajima, N., Iwata, H., Watazu, A., Tsutsumi, S.: Surface modification of poly(ethylene-co-vinyl alcohol): hydroxyapatite immobilization and control of periodontal ligament cells differentiation.: Biomaterials **25**, 4817-4824(2004)

Zhang, C., Mastumoto, S., Hyon, S.-H., Qualley, SA., Upshaw, L., Strong, DM., Reems, JA.: Polyphenol, An Extract of Green Tea, Increases Culture Recovery Rates of Isolated Islets from Non-Human Primate Pancreata and Marginal Grade Human Pancreata.: Cell Transplantation, **13**, 145-152, (2004)

Takahashi, K., Sawai, D., Yokoyama, T., Kanemoto, T., Hyon, SH.: Crystal transformation from the  $\alpha$ -to the  $\beta$ -form upon tensile drawing of poly(L-lactic acid), Polymer **45**, 4969-4976(2004)

熊谷一星, 塚本篤史, 鈴木啓水, 坂口一彦, 玄 丞然, 松村和明, 池内 健, 堤 定美, 速水 尚, 森田有亮, 半関節形成術用人工関節軟骨 Poly(Vinyl alcohol)Hydrogel のトライボロジ特性評価(第2報), 日本臨床バイオ

メカニクス学会誌, Vol. 25, 109-115,(2004)

Jin, FZ., Hyon, SH., Tsutsumi, S., : Hydrostatic Extrusion of Poly(L-lactide), Macromolecular Symposia(in Press)

Moon, SI., Hyon, SH., Jin, F., Lee, JC., Tsutsumi, S., : Novel Carbon Nanotube/Poly(L-lactic acid)Nanocomposites ; Their Modulus, Thermal Stability, and Electrical Conductivity *Sung-II*, Macromolecular Symposia(in Press)

## 2) 著 書

玄 丞然：「再生医療用培地，ナノファイバーテクノロジーを用いた高度産業発掘戦略」(玄 丞然，松川詠梅，本宮達也編集)，p. 229-239，シーエムシー出版，東京，2004

## 3) 総 説

玄 丞然，松村和明：緑茶カテキンを用いた生体組織保存液：生物工学会誌 82 巻 10 号 485-488(2004)

Hyon, S.H., : A Non-Frozen Living Tissue Bank for Allotransplantation Using Green Tea Polyphenols : Yonsei Medical Journal. Vol.45, No.6, 1025-1034(2004)

## ◆ 学会等の発表 ◆

### 1) 学会・研究会発表

東 高志，久津木 学，伊藤 仁，堤 定美：顎運動の Magnetic Resonance 3 次元画像から 4 次元画像化へ. 第 10 回日本コンピュータ歯科医学会・第 31 回歯科人工知能研究会(2004.2.21-21. 京都)

姜 有峯，東 高志，堤 定美，笈田武範，松田哲也. 新しい bed 型加振法による MR-Elastography の試み. 第 10 回日本コンピュータ歯科医学会・第 31 回歯科人工知能研究会(2004.2.21-21. 京都)

城 眞理子，鄭 徳泳，東 高志，堤 定美，岸本 泰蔵：MRI からの軟組織 FEM モデリング(Finite Element Method for Soft Tissue Modeling with Using Open MRI). 第 10 回日本コンピュータ歯科医学会・第 31 回歯科人工知能研究会(2004.2.21-21. 京都)

鷹羽浄顕，山崎和裕，根本慎太郎，松村和明，玄 丞然，米田正始：緑茶ポリフェノールを用いた未凍結血管保存，第 3 回日本再生医療学会総会(2004.3.23-25. 千葉)

岩永康裕，松本慎一，Zhang Guangming, 中井勇介，田中紘一，野口洋文，興津 輝，Strong D.Michael, 田中紘一，玄 丞然：緑茶ポリフェノールによるサル及びヒト分離膜島生存率の改善効果，第 3 回日本再生医療学会総会(2004.3.23-25. 千葉)

Jin, F., Hyon, SH., Tsutsumi, S., : Gamma-Ray Sterilizable Medical Devices Made from Biodegradable Polymers,7th World Biomaterials Congress(2004.3.17-21. Sydney)

Moon, SI., Hyon,SH., Tsutsumi, S., : Melt/Solid Polycondensation of High-Molecular-Weight of Poly(L-Lactic Acid), 7th World Biomaterials Congress(2004.3.17-21. Sydney)

Matsumura, K., Hyon, SH., Nakajima, N., Iwata, H., Tsutsumi, S., : Surface Modification of Poly(ethylene-co-vinyl alcohol)(EVA) : Hydroxyapatite Immobilization and Control of Periodontal Ligament Cells Differentiation, 7th World Biomaterials Congress(2004.3.17-21. Sydney)

Han, DW., Park, BJ., Lee, IS., Lee, KY., Kim, JK., Hyon, SH., Park, JC., : Differential Effects of Green Tea Polyphenol on Cellular Responses in Normal Cells vs. Cancer Cells and Its Possible Mechanisms,7th World Biomaterials

Congress(2004.3.17-21. Sydney)

Azuma T, Tsutsumi S, Kutsuki M, Itoh J : TMJ Movement Analysis of Real-Time Ultra High-Speed MRI. Proceedings of the 82nd International Association for Dental Research ; 2004 Mar10-13 ; Honolulu, USA.

Azuma T, Mizuno Y, Ise K, Ito J, Hiramoto Y, Nakamura M, Kutsuki M, Nakagawa Y, Nakamura T, Tsutsumi S : Dynamic 4-Dimensional MRI of Knee Joint Movement Using FLASH 3D VIBE. Proceedings of the twelfth International Society for Magnetic Resonance in Medicine ; 2004 May15-21 ; Kyoto, Japan.

Moon, SI., Choi, SK., Kang, HJ., Lee, CJ., Hyon, SH., Tsutsumi, S., : Novel Carbon Nanotube/Poly(L-lactic Acid) Nanocomposites ; Their Modulus, Thermal Stability, and Electrical Conductivity, The 8th World Conference on Biodegradable Polymers and Plastics(2004.6.1-4. Seoul)

澤井大輔, 横山隆文, 金元哲夫, 村上昌三, 玄 丞然, 中前勝彦 : 放射光 X 線を用いた加熱延伸過程における PLLA 及び PDLA/PLLA ブレンド試料の構造変化追跡, 平成 16 年度繊維学会年次大会及び 60 周年記念式典・講演会(2004.6.9-11. 東京)

Murakami, M., Cui, L., Han, L., Hyou, SH., : A novel spraying-in-liquid method for preparing microspheres, Controlled Release Society 31st Annual Meeting(2004.6.12-16. Honolulu)

高橋 充, 鳥羽紀成, 森野茂行, 東 高志, 梶原直央, 堤 定美, 中村達雄, 加藤治文 : 肺実質への EPC の直接注入 : 肺高血圧症に対して. 第 25 回日本炎症・再生医学会(2004.7.13-14. 東京)

森野茂行, 中村達雄, 鳥羽紀成, 高橋 充, 永安 武, 東 高志, 堤 定美, 櫛引俊宏, 田畑泰彦, 吉谷 信, 清水慶彦 : 徐放性線維芽細胞増殖因子を用いた肺機能再生に関する検討. 第 25 回日本炎症・再生医学会(2004.7.13-14. 東京)

福田正順, 中村達雄, 岸上義弘, 遠藤克昭, 東 高志, 藤川孝満, 堤 定美, 清水慶彦 : イヌ脊髄損傷モデルの MR 像と組織像による評価. 第 25 回日本炎症・再生医学会(2004.7.13-14. 東京)

笈田武範, 姜有峯, 岡本淳, 東高志, 瀧澤修, 天野晃, 堤定美, 松田哲也 : MR Elastography のためのベッド型加振装置. 日本磁気共鳴医学会大会(2004.9.16-18. 大津)

澤井大輔, 横山隆文, 玉田真規, 金元哲夫, 玄 丞然, 村上昌三, 中前勝彦 : 放射光 X 線を用いた加熱延伸過程におけるポリ乳酸フィルムの逐次測定, 第 53 回高分子討論会(2004.9.15-17. 北海道)

金 奉哲, 玄 丞然, 堤 定美 : 基板を変えることによるポリ-L-乳酸表面の調製, 第 53 回高分子討論会(2004.9.15-17. 北海道)

松本泰一, 柿木良介, 池口良輔, 玄 丞然 : 緑茶ポリフェノールを利用した抹消神経保存における至適処理条件の検討, (R)日本整形外科学会基礎学術集会(第 19 回)(2004.10.21-22. 東京)

池口良輔, 柿木良介, 松本泰一, 玄 丞然, 中村孝志 : ポリフェノール処理した保存抹消神経同種移植に関する研究, (R)日本整形外科学会基礎学術集会(第 19 回)(2004.10.21-22. 東京)

大川 孝, 中村光伸, 糸満盛憲, 金奉哲, 玄 丞然, 堤 定美 : 放射線滅菌時限分解の吸収性ポリ乳酸-ハイドロキシアパタイトの in vivo 評価, (R)日本整形外科学会基礎学術集会(第 19 回)(2004.10.21-22. 東京)

大杉太佳司, 清水亮宏, 速水 尚, 玄 丞然, 松村和明, 中村孝志, 本津茂樹 : 人工間接軟骨 PVA-hydrogel の亀裂進展強度, 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2004 第 11 回つくばバイオマテリアル研究会(2004.11.15-18. つくば)

塚本篤史, 玄 丞然, 速見 尚, 松村和明, 森田有亮, 池内 健, 坂口一彦, 堤 定美 : 人工関節軟骨材料 Poly(vinyl alcohol)Hydrogel の摩擦・摩耗に及ぼすモロフォロジの影響(2004.11.12-13. 福岡)

Iwanaga, Y, Matsumoto, S., Yonekawa, Y., Noguchi, H., Nagata, H., Okitsu, T., Tanaka, K., Kim, JY., Matsumura, K., Hyon, SH., : Polyphenol is effective for cryopreservation of porcine islets, 第31回日本低温医学会総会 “Cryomedicine 2004”(2004.11.18-20. 東京)

Urayama S, Axel L, Okamoto J, Azuma T, Tsutsumi S, Fukuyama N. : Transient Artifact Reduction with Dispersion of Phase(TARD)in Coherent SSFP Imaging. Radiological Society of North America(11.28-12.3.2004. Chicago, USA)

## 2) 講演・シンポジウム

Suong-Hyu Hyon : The design, synthesis and evaluation of the artificial implant with periodontal ligament (招待講演). Taipei Medical University(2004.3.29. Taipei, 台湾)

Suong-Hyu Hyon : The non-frozen tissue bank for allograft using green tea polyphenol(招待講演). 中興大学 (2004.3.30. 台中, 台湾)

玄 丞然 : 再生医療用培地とナノテクノロジー(特別講演), 京都 AFMc 特別講演会(2004.4.23. 京都)

Suong-Hyu Hyon : Some Medical Application of Biodegradable polymers(招待講演). KIST(2004.6.1. Seoul, Korea)

Suong-Hyu Hyon : Radiation crosslinking of the biodegradable polymers(招待講演)The 8th World Conference on Biodegradable Polymers and Plastics(2004.6.3, Seoul. Korea)

玄 丞然 : 医療用のファイバーとしてのポリ乳酸(基調講演). 2004 未来せんい展(2004.7.19. 東京)

玄 丞然 : 生体組織の常温長期保存液の創製(招待講演), 京都府中小企業総合センター (2004.9.10. 京都)

## 寄附研究部門

### 組織分化制御学研究部門 Endowed Chairs Department of Morphoregulation

分野主任 特任助教授 平井 洋平

Assoc. Prof. Yohei Hirai

#### 【研究概要】

組織分化制御学研究部門は、組織の形態分化を促進・制御するエピモルフィンに関する研究を深化させることを目的に、住友電気工業(株)の寄付により 2004 年 10 月に開設された。

組織を構成する機能細胞は(非接着性のものを除いて)生体内で互いに規則的に接着・連絡し合いながら高次の組織構造体の中で巧みに機能調節していることを考慮すると、細胞移植を用いた再生医療の早期実現ためには細胞が有機的に繋がった組織構造体の構築誘導が必要である。

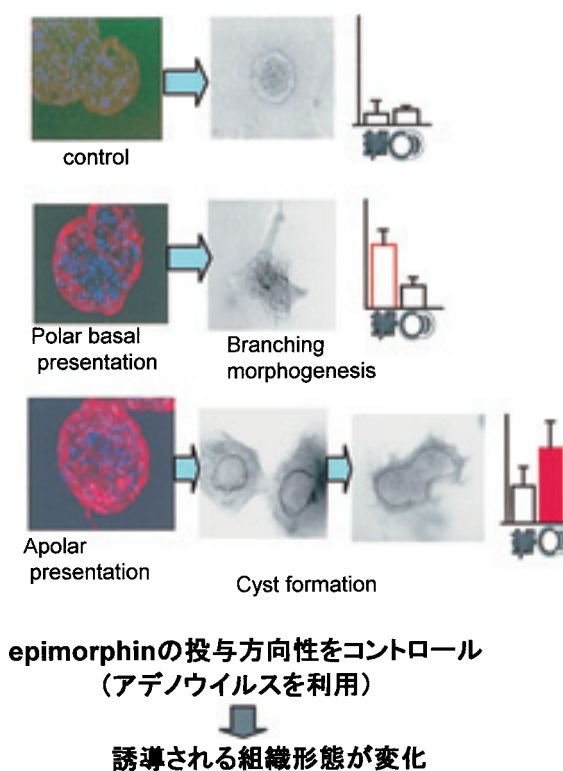
エピモルフィンは 1992 年に見出された形態形成誘導因子であり、細胞外への分泌機構等にまだまだ未知な部分は多いが、種々の臓器で上皮組織に直接作用して強力に組織構築を誘導しその形態を制御する。例えば乳腺上皮細胞を用いた研究では、エピモルフィンは上皮組織の構造形成に必須であり投与形態を変化させることで(不溶性の性質を利用すれば不均一な投与が可能)誘導される組織形態が変化することが培養細胞、トランスジェニックマウスの両方の系で明らかになっている。種々の組替え蛋白を用いた研究からは、分子内/分子間の相互作用で不溶性となったエピモルフィンが状況に応じて(スプライシングや MMP による切断で)膜から遊離しターゲット細胞上でその受容体と結合するらしい証拠が見つかり、その下流で発現誘導/抑制される分子についての知見も蓄積されてきた。また、エピモルフィン発現のためのウイルスや機能阻害用の RNAi ベクターの有用性も確認され現在これらの大量調製が修了した段階である。さらに、ごく最近このエピモルフィンの形態形成誘導能を利用した「発毛剤」の開発で進展があった。経皮吸収させるために行った活性配列抽出と活性構造創成のためのアミノ酸置換・化学修飾で、血行促進、栄養補給を主目的とする従来の発毛・育毛剤有効成分の 1/100000 濃度で強力に毛包形成を誘導するものが得られたのである。この有効濃度は生理活性物質がシグナル分子として機能するそれに匹敵し、このことは少なくとも毛包上皮細胞に対してのエピモルフィン最小活性単位が合成できたことを示唆する。こういった一連の研究の結果、これまで一見不溶性で取り扱いの困難であったエピモルフィンの機能を自由に利用出来るツールが完全に揃った。今後、これらの分子ツールをベースに、これまで内外で蓄積された形態形成に係わる分子群の知見を取り入れ、細胞の接着・骨格再編成・極性・運動性等の分子レベルでの解析ならびに制御を試みる。また、将来的には高次の組織形態形成の機構解析・制御研究を深化させると共に、組織構造体を構築する応用技術についても検討したい。なお、研究対象とする細胞・組織は、その応用可能性を勘案して皮膚ならびにその付属物を中心に据えることとし、種々のモデル細胞や幹細胞から機能分化させて得る正常細胞などを積極的に利用する。

Department of morphoregulation was established in October 2004 by a donation from Sumitomo Electric Industries, LTD. Our laboratory focus is on a protein called epimorphin(Hirai et al., Cell, 1992) that we have shown to stimulate epithelial cells to organize into three-dimensional structures and undergo functional differentiation in vitro. Epithe-

lial cells (including hair follicle epithelium) perform their physiological functions by organizing into three-dimensional tissue structures. Our research has attempted to use the same strategies used by differentiated hair cells to design a therapy to stimulate hair growth. Cells organize into functional tissues by establishing proper cellular polarity, increasing cell-cell contacts, and by secreting signaling molecules that enable cellular cross-talk. We have found that the epimorphin protein is capable of stimulating tissue organization by affecting these specific cellular properties. By the use of three-dimensional cell culture assays we have been able to study the effects of epimorphin on hair follicles in vitro.

Our lab discovered the mesenchymal protein epimorphin in 1992. Since our initial discovery Epimorphin has been shown to stimulate epithelial morphogenesis in a wide variety of organs, albeit the mechanism of its cell surface presentation is still unclear. For example, experiments both in culture and in transgenic mice demonstrated that this protein is necessary for mammary epithelial cells to undergo normal morphogenesis. We have also shown that epimorphin can stimulate different types of morphogenesis when presented to mammary epithelial cells using different approaches. Interestingly, the epimorphin protein gives rise to insoluble oligomeric products through intra- and inter-molecular interactions, and it is thought that this process allows for epimorphin to directly bind to the surface of target epithelia. In addition, a number of molecules that signal downstream of epimorphin have been identified by our lab and others. Our lab has developed a virus system in order to overexpress exogenous extracellular epimorphin and by using RNA interference (RNAi) we have inhibited endogenous epimorphin. Also notable, the recent progress from this research has made possible a hair-growth reagent derived from epimorphin. This therapy was developed successfully by identifying the cellular recognition domain from epimorphin that is responsible for stimulating hair growth. By genetically engineering amino acid mutations in the isolated sequence the potency of the molecule has been optimized. The generated peptide has a strong affinity to hair follicles stimulating a turnover from telogen to anagen phase and it necessitates a very low concentration (only a 1/10000 dilution of epimorphin is required to see the same effect an active component from a conventional hair growth tonic can cause).

This concentration is almost identical to the endogenous concentration of other growth factors for signaling to target cells, suggesting that the small molecule derived from the epimorphin protein, at least for hair follicle regeneration, is now in our hands. Our future studies will focus on the molecular mechanisms of epimorphin action, in specific what are the key molecules responsible for such effects as cell-cell adhesion, reconstitution of cytoskeleton, regulation of cell polarity and cellular mitogenic activity. We will also try to establish technologies to control the morphological differentiation of other types of tissues. The target cells mainly used in the lab will include cells from skin and its epithelial derivatives (hair follicular cells and mammary epithelial cells), either from primary cells and differentiated stem cell derivatives.



【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Andoh, A., Fujino, S., Hirai, Y. and Fujiyama, Y. : Epimorphin expression in human colonic myofibroblasts *Int. J. Mol. Med.* 13, 57-61 (2004)

Aono, S., Legouis, R., Hoose, W.A., and Kemphues, K.J. : PAR-3 is required for epithelial cell polarity in the distal spermatheca of *C. elegans*. *Development* 131, 2865-2874 (2004)

Qin J., Takahashi, Y., Isuzugawa, K., Imai, M., Yamamoto, S., Hirai, Y. and Imakawa, K. : Regulation of embryo out-growth by a morphogenic factor, epimorphin, in the mouse. *Mol Reproduction and Development*. *In press*

2) 著 書

平井洋平：器官形成を制御するエピモルフィン「再生医療のための細胞生物学」(コロナ社)(印刷中)

## 技 術 部

## Division of Technical Support

## 【研究支援概要】

再生医科学研究所における研究支援の一環として、病理組織標本作製を行っている。

- ・パラフィン切片作製、凍結切片作製、ブロックの作製、脱灰標本の作製
- ・一般染色(Hematoxylin-Eosin stain)                      ・免疫染色
- ・特殊染色(Azan stain, Alcian blue stain, Berlin blue stain, Dahl's method, Elastica-Van Gieson stain, Kluver-Barrera stain, Toluidine blue stain, Safranin O-Fast green stain, von Kossa's method, Silver stain)

2004年1月より12月末までに10分野204件と依頼は分野、件数、染色種類ともに順調に増え、研究者の方々の要望に添えてきた。

一方、さらなる技術向上をめざし、6月には実験病理組織研究会第11回総会においてこれまで培ってきた薄切、伸展の技術について発表、12月には同技術研究会第12回技術研修会に参加して免疫組織化学の手技を深めてきた。また新潟大学、島根大学で病理組織標本作製についての研修および技術交流をおこなってきた。

## 【業績目録】

## ◆ 誌上発表 ◆

- Kitagawa K., Wang J., Matsushita T., Kogishi K., Hosokawa M., Fu X., Guo Z., Mori M., Higuchi K. : Polymorphisms of mouse apolipoprotein A-II : seven alleles found among 41 inbred strains of mice. *Amyloid* 10 : 207-214(2003)
- Guo Z., Mori M., Fu X., Yao J., Xing Y., Korenaga T., Li G., Matsushita T., Hosokawa M., Higuchi K. : Amyloidosis modifier genes in less amyloidogenic A/J mouse strain. *Lab. Invest.* 83 : 1605-1613(2003)
- Umezawa M., Tatematsu K., Korenaga T., Fu X., Matsushita T., Okuyama H., Hosokawa M., Takeda T., Higuchi K. : Dietary fat modulation of apoA-II metabolism and prevention of senile amyloidosis in the senescence-accelerated mouse. *J Lipid Res.* 44 : 762-769(2003)

## ◆ 学会，研究発表 ◆

- 松下降壽：関西西部会報告「薄切の現状と工夫」切片の伸展，乾燥．実験病理組織技術研究会第11回総会(2004.6.4. 大阪)
- 細川昌則，渡辺知子，松田園子，松下降壽，小岸久美子：SAMマウスの繁殖に及ぼす飼育環境・栄養環境の影響．第18回老化促進モデルマウス研究協議会研究発表会ミニワークショップ(2002.7.6. 兵庫)



## 4. 学術集会

### 4-1 京都大学再生医科学研究所平成16年度学術講演会

(2004.12.17 芝蘭会館稲盛ホール)

開会挨拶	研究所長・発生分化研究分野・教授	中 辻 憲 夫
第1部		
ヒト ES 細胞株の樹立と再生医学	霊長類胚性幹細胞研究領域・助教授	末 盛 博 文
エバネッセント光を用いた材料表面への細胞接着過程の解析とその細胞アレイへの応用	組織修復材料学分野・教授	岩 田 博 夫
間葉系幹細胞を用いた再生医療の基礎と応用	組織再生応用分野・教授	戸口田 淳 也
第2部		
間葉の血管化制御と血管新生抑制因子	生体分子設計学分野・教授	開 祐 司
関節軟骨の表面構造と潤滑メカニズム	ナノバイオメカニズム研究領域・教授	池 内 健
タンパク質はどのように作られ、どのように壊されるのか?	細胞機能調節学分野・教授	永 田 和 宏
第3部		
発生過程での幹細胞, リンパ球の動態制御とケモカイン CXCL12(SDF-1/PBSF)	生体システム制御学分野・教授	長 澤 丘 司
Tissue Engineering とその臨床応用	臓器再建応用分野・助教授	中 村 達 雄
シミュレーション医工学の研究状況	シミュレーション医工学研究領域・助教授	玄 丞 然
形態形成における ADAM プロテアーゼの役割	再生増殖制御学分野・教授	瀬 原 淳 子

## 4-2 セミナー

開催日	講演者・所属	演 題	セミナー名	主催分野
2004. 1.16	高木 淳一 大阪大学蛋白質研究所	インテグリンレセプターの構造変化ーリガンド結合とシグナリングを結ぶ鍵	生体分子設計学・生体システム制御学セミナー	生体分子設計学分野・生体システム制御学分野
2004. 1.23	近藤 淳 三菱ウェルファーマ株式会社 横浜研究所	プロテオーム解析の現状	生体分子設計学分野 他セミナー	生体分子設計学分野
2004. 1.30	大倉 永也 国立がんセンター研究所, 腫瘍内分泌プロジェクト	Steroid receptor superfamily に属する NOR1 (Neuron derived Orphan Receptor 1: NR4A3) の転写制御および癌化における役割	生体機能調節学セミナー	生体機能調節学
2004. 2.13	鄭 雄一 東京大学大学院医学系研究科	骨・軟骨分化誘導因子の解析ー再生医療をめざしたアプローチ	生体分子設計学分野 セミナー	生体分子設計学分野
2004. 2.24	和田 郁夫 福島県立医科大学 生体情報伝達研究所	小胞体内でのタンパク質の動きと品質管理について	第 118 回細胞生物学 ジョイントセミナー	細胞機能調節学分野
2004. 2.24	山本 章嗣 長浜バイオ大学バイオサイエンス学部	小胞体にとどまるタンパク質	第 118 回細胞生物学 ジョイントセミナー	細胞機能調節学分野
2004. 3. 4	松田 佳子 徳島大学工学部	SPC ファミリー(ズブチリシン様プロテイン変換酵素)の多様性とその生理的意義	生体分子設計学分野 セミナー	生体分子設計学分野
2004. 3. 4	関口 清俊 大阪大学蛋白質研究所・ERAD 関口細胞外環境プロジェクト	細胞外マトリックスの多様性を解読する: マトリックス生物学と再生医療の接点を求めて	第 119 回細胞生物学 セミナー	細胞機能調節学分野
2004. 3. 5	小守 壽文 大阪大学大学院医学系研究科	Runx ファミリーによる軟骨細胞分化制御機構	生体分子設計学分野 セミナー	生体分子設計学分野
2004. 3.15	吉原 良浩 理化学研究所 脳科学総合研究センター	機能的神経回路構築の分子メカニズム 解明へ向けて	再生増殖制御学セミナー	再生増殖制御学分野
2004. 3.23	吉森 保 国立遺伝学研究所	The Long and Winding Roads to Lysosomes: オートファジーとエンドソーム系の分子機構, 疾患との関わり	第 120 回細胞生物学 セミナー	細胞機能調節学分野
2004. 4. 9	Ch. Mohan Rao (Centre for Cellular and Molecular Biology, Hyderabad, India)	Alpha crystallin: chaperone-like activity and localization	第 121 回細胞生物学 セミナー	細胞機能調節学分野
2004. 4.28	黒原 一人 美湖会三浦中央病院歯科	形態形成におけるメルトリン $\beta$ の役割	再生増殖制御学セミナー	再生増殖制御学分野
2004. 5.12	Kenneth M. Yamada (NIH/NIDCR, USA)	Integrin and Fibronectin Dynamics in Cell Adhesion, Signaling, and Development	第 122 回細胞生物学 セミナー	細胞機能調節学分野
2004. 5.24	野瀬 俊明 三菱化学生命科学研究所	全能性を維持する生殖細胞系譜の in vitro 分化	再生増殖制御学セミナー	再生増殖制御学分野
2004. 5.24	大隅 典子 東北大学大学院医学系研究科	ニューロン新生における Pax6 の役割	再生増殖制御学セミナー	再生増殖制御学分野
2004. 5.25	Stefan Jentsch (Max Planck Institute of Biochemistry, Germany)	Ubiquitin, SUMO and DNA repair	第 123 回細胞生物学 セミナー	細胞機能調節学分野
2004. 5.25	Foo Y. Liew Division of Immunology, Infection and Inflammation University of Glasgow, UK	Innate mediators in inflammatory disease	生体機能調節学セミナー	生体機能調節学

開催日	講演者・所属	演 題	セミナー名	主催分野
2004. 6.23	磯貝 純夫 岩手医科大学	頭部血管系の解剖学的構造を決定するのは血流か？遺伝子か？（ゼブラフィッシュとメダカによる解析）	生体分子設計学分野 セミナー	生体分子設計学分野
2004. 8. 3	Dale T. Umetsu Pediatrics, Stanford University	Regulation of pulmonary inflammation by adaptive regulatory T cells	生体機能調節学セミナー	生体機能調節学
2004. 8.10	遊佐 宏介 大阪大学大学院医学系研究科	BAC クローンに基づくターゲティングベクター作製の実際	第1回再生実験動物施設セミナー	再生実験動物施設
2004. 9.14	Martin Hrabe de Angelis Institute of Experimental Genetics, GSF National Research Centre in Munich	The German Mouse Clinic- The New Standard in Comprehensive Phenotyping of Mouse Models	生体分子設計学分野 セミナー	生体分子設計学分野
2004.10. 9	望月 明 東海大学 開発工学部	生体材料表面における水の構造と抗血栓性	組織修復セミナー	組織修復材料学分野
2004.10. 9	辻 秀人 豊橋技術科学大学 工学部	生分解性高分子	組織修復セミナー	組織修復材料学分野
2004.10.12	John T. Lis (Cornell University, USA)	Dissecting Mechanisms of Transcription in vivo with RNAi, Drugs, and Aptamers	第124回細胞生物学 セミナー	細胞機能調節学分野
2004.10.21	大倉 永也 国立がんセンター研究所, 腫瘍内分泌プロジェクト	がん抑制遺伝子産物 <i>menin</i> の <i>mis-sense</i> 変異によるタンパク質分解	生体機能調節学セミナー	生体機能調節学
2004.11.15	Rudolf Jaenisch Whitehead Institute for Biomedical Research Department of Biology, MIT, U.S.A.	Nuclear Cloning, Stem cells and Reprogramming of the Genome	再生誘導セミナー	再生誘導研究分野
2004.11.24	STEVEN F. ZIEGLER Immunology Program Benaroya Research Institute	Foxp3 and the development and Function of CD4+CD25+regulatory T cells	生体機能調節学セミナー	生体機能調節学
2004.12. 7	Daniel N. Hebert (Univ. of Massachusetts, USA)	N-linked glycans act as maturation and quality control tags in the endoplasmic reticulum	第125回細胞生物学 セミナー	細胞機能調節学分野
2004.12. 9	RUSLAN MEDZHITOV イエール大学 免疫生物学	Toll-mediated control of Adaptive immunity「Tollを介する適応免疫の制御」	生体機能調節学セミナー	生体機能調節学

## 4-3 研究発表会

### 第 18 回医工学若手研究発表会プログラム(2004.3.17)

発表者	所属	演題
1. 城 眞 理 子	シミュレーション	MRI からの軟組織 FEM モデリング
2. 青 山 朋 樹	組 織 再 生	PGE2 レセプター特異的アゴニストを用いた関節軟骨修復の試み
3. 金 修 一	臓 器 再 建	コラーゲンスポンジを用いた骨格筋組織再生の試み
4. 松 浦 稔	生 体 材 料	Basic FGF による粘膜再生を治療戦略とした炎症性腸疾患治療の基礎的検討
5. 大 橋 徹 夫	生 体 機 械	超音波反射波解析による軟骨変性評価
6. Hossein Hosseinkhani	生 体 材 料	Ultrasound enhances tumor targeting of plasmid DNA by PEGylation of cationized dextran
7. 野田澤 俊 介	臓 器 再 建	メッシュ型人工気管の圧縮特性
8. 山 内 文 生	組 織 修 復	DNA 担持電極による部位と時期を限定した遺伝子導入法
9. 山 田 正 敏	生 体 材 料	フラレンの医薬品への応用
10. 岸 上 義 弘	臓 器 再 建	症例報告：猫の脊髄損傷に対して、脊髄再生を実施した 1 症例
11. 柴 田 弘太郎	組 織 再 生	間葉系幹細胞の多分化能に関する研究
12. 井 上 幸 子	生 体 材 料	ヒト脂肪前駆細胞の増殖・分化に与える bFGF の添加効果
13. 鈴 木 啓 水	シミュレーション	人工関節軟骨材料 Poly(vinyl alcohol) hydrogel の含水率および $\gamma$ 線照射効果がトライボロジ特性に及ぼす影響
14. 戸 田 満 秋	組 織 修 復	アミノ基とメチル基を末端に持つ混合自己組織化膜と血清蛋白との相互作用の解析
15. 金 井 夏 子	生 体 材 料	セリシンのバイオマテリアルへの応用
16. 松 野 智 宣	臓 器 再 建	血小板放出成長因子を用いた骨再生
17. 原 口 知 則	生 体 材 料	ゼラチンハイドロゲルシートを用いた、静脈グラフト周囲への bFGF, その他の薬剤の徐放効果について
18. 牧 剛 志	組 織 修 復	中枢神経再生に向けた神経突起伸長因子のスクリーニング法の確立
19. 稲 継 泰 之	生 体 材 料	細胞の高効率増殖を目指したバイオリアクターの開発
20. 藤 本 裕 之	組 織 修 復	自己組織化単分子膜を用いた siRNA 導入アレイの作製
21. 呉 本 晃 一	臓 器 再 建	歯髄の再生
22. 鬼 頭 孝 之	生 体 機 械	ステント拡張による血管壁との接触応力の有限要素解析
23. 塚 本 篤 史	シミュレーション	半関節形成術用人工関節軟骨 Poly(vinyl alcohol) Hydrogel のトライボロジ特性評価
24. 柳 瀬 薫	生 体 材 料	リン酸基傾斜機能化ハイドロゲルの作製
25. 山 下 勝	臓 器 再 建	組織工学的手法による喉頭の再生：内腔の形態復元を目指して
26. 奇 梅日更	器 官 形 成	PVA を用いたシート型カプセル化膵島に関する研究
27. 安 田 佳 織	生 体 材 料	不織布上でのヒト脂肪前駆細胞の増殖に与える培養方法の影響
28. 森 安 健 太	組 織 修 復	ES 細胞の三次元培養によるドーパミン産生細胞への分化誘導
29. 森 野 茂 行	臓 器 再 建	bFGF microspheres を用いたイヌ肺機能再生に関する検討
30. 城 潤一郎	生 体 材 料	ポリイオンコンプレックスを用いたプラスミド DNA の肝臓ターゲティング
31. 有 馬 祐 介	組 織 修 復	全反射蛍光顕微鏡を用いた細胞接着過程の観察
32. 丸 井 晃	生 体 材 料	bFGF および HGF 同時徐放によるマウス下肢虚血モデルでの血管新生
33. 中 川 典 美	器 官 形 成	ラット下肢血流障害モデルの作成
34. 小 林 丈 士	臓 器 再 建	歯周組織の再生治療への approach ～EMD と MSC を用いた方法～
35. 鄭 徳 泳	シミュレーション	リモデリングシミュレーションを用いたインプラント周辺骨のゆるみ解析
36. 市 戸 義 久	生 体 材 料	チタンウェブ上での骨髄幹細胞培養
37. 福 田 正 順	臓 器 再 建	犬脊髄損傷モデルを用いた脊髄再生へのアプローチ
38. 櫛 引 俊 宏	生 体 材 料	ゼラチンとポリエチレングリコールとからなる分子集合体の作製
39. 名嘉 マルコ 寛	生 体 機 械	関節軟骨の潤滑に及ぼす水和性の影響
40. 中 田 顕	臓 器 再 建	脳組織の再構築について
41. 白 水 泰 昌	器 官 形 成	膵島冷保存の有用性についての検討
42. 嶋 田 英 輝	組 織 修 復	ハイドロゲル内マウス ES 細胞からインスリン分泌細胞への分化誘導
43. 尾 関 真	生 体 材 料	肝細胞増殖因子と徐放担体としてのゼラチンとの相互作用
44. 茂 野 啓 示	臓 器 再 建	下顎神経の再生

発表者	所属	演題
45. 金光尚樹	生体材料	心筋梗塞に対する骨格筋芽細胞移植の効率化～scaffoldを用いた試み～
46. 伊比井 崇向	組織修復	インスリン分泌前駆細胞探索のためのマウス ES 細胞への遺伝子導入
47. 寺田大樹	生体機械	磁気センサによるカテーテル先端の位置と姿勢角の検出システム
48. 劉 健	生体材料	水溶化したフラーレンの光線力学抗がん活性の評価
49. 文 成 日	シミュレーション	直接重縮合法による高分子量ポリ-L-乳酸の合成
50. 河南里江子	臓器再建	ヒト気管支 organ culture 法による <i>Aspergillus fumigatus</i> の感染様式の検討
51. 広瀬文隆	生体材料	生体分解性高分子を用いた新しい増殖性硝子体網膜症モデル
52. マツコヴァー ハナ	生体機械	セラミック/セラミック人工股関節の点接触下応力集中と衝撃に関する研究
53. Akhmar Magrfov	臓器再建	Co-culture of mucosal and bone marrow derived stromal cells ; In vitro study.
54. 山添泰宗	組織修復	ES 細胞から神経細胞への分化誘導活性を有するフィーダー細胞のスクリーニング法
55. 藤川智行	生体材料	カチオン化ゼラチンマイクロスフェアからのプラスミド DNA の in vivo 徐放
56. 嶋 靖 子	組織再生	不死化間葉系幹細胞の癌化機構の解析
57. 川上 理	生体材料	中空糸を用いた、ゼラチンハイドロゲルからの bFGF 徐放による動脈瘤治療の試み
58. 井上祐利	臓器再建	歯牙組織の再生
59. 金谷 勲	生体材料	組織工学的手法による尿道下裂修復術の開発
60. 坂田直昭	器官形成	PVA カプセル化膵島の糖尿病性腎症に対する効果
61. 藤田 聡	組織修復	未分化造血幹細胞の増幅に適したフィーダー細胞の探索
62. 高嶋一登	生体機械	低侵襲治療のための触覚センサに関する研究
63. 佐藤秀樹	組織修復	カニクイザル ES 細胞からインスリン分泌細胞への分化誘導
64. 北郷明成	生体材料	生体材料と自家血管束を用いた血管柄付き移植骨片の作製
65. 根本 正	臓器再建	新しい手術器械の開発コンセプト
66. 高本智紹	生体材料	ポリエチレンテレフタレート繊維によるコラーゲンスポンジの力学強化
67. 姜 有 峯	シミュレーション	新しい bed 型加振法による MRE の試み
68. 小西光長	生体材料	縫合貼付かつ Dual release が可能な CDDP および ADM 包含 gelatin hydrogel の抗腫瘍効果の検討
69. 吉谷 信	臓器再建	PGA チューブによる犬横隔神経の再生

## 4-4 学術講演会・シンポジウム・研究会

医工学フォーラムー2003 年度特別学術講演会ー（2004.2.25 京大会館 医工学フォーラム会長 筏 義人）

- |                                    |                                    |
|------------------------------------|------------------------------------|
| 1. DDS は生物医学研究、医療のための基盤テクノロジー      | 田畑 泰彦(生体材料学分野)                     |
| 2. ES 細胞から組織工学用細胞を作る。              | 岩田 博夫(組織修復材料学分野)                   |
| 3. 再生医療の産業モデルー細胞培養ビジネスから大規模知識産業まで？ | 三宅 淳(生体物性学分野)                      |
| 4. 生体組織常温長期保存液の創製に関する研究            | 堤 定美(シミュレーション医工学分野)                |
| 5. 磁気による脳動脈用カテーテルの位置検出とナビゲーション     | 池内 健(生体機械工学分野)                     |
| 6. 生体内力学環境設計による軟骨再生                | 富田 直秀(国際融合創造センター創造部門<br>(生体・医療工学)) |
| 7. 肺高血圧症の新しい治療法                    | 清水 慶彦(臓器再建応用分野)                    |
| 8. 臨床応用可能なバイオ人工臓臓への挑戦              | 角 昭一郎(器官形成応用分野)                    |
| 9. 間葉系幹細胞の基礎生物学と臨床応用               | 戸口田淳也(組織再生応用分野)                    |

### 特別講演

医工産連携の取組み例

田中 順三

(独立行政法人物質・材料研究機構生体材料研究センター・センター長)

特定領域研究「生殖細胞の発生プロセス・再プログラム化とエピジェネティクス」による公開シンポジウム

「生殖細胞の発生プロセス・再プログラム化とエピジェネティクス」  
(2004.2.13 キャンパスプラザ京都 事務局：京都大学再生医科学研究所・発生分化研究分野)

1. 松居 靖久(大阪府母子センター)「マウス生殖細胞の形成機構」
2. 阿部 訓也(理研バイオリソースセンター)「生殖系列発生過程における高次遺伝子発現制御の包括的解析」
3. 野瀬 俊明(三菱生命研)「マウス *Vasa* 遺伝子と生殖系譜発生」
4. 仲野 徹(阪大微研)「マウス *Germ Cell Less* 遺伝子の機能解析」
5. 中馬新一郎・中辻憲夫(京大再生研)「マウス生殖顆粒構成因子の同定と機能解析」
6. 篠原 隆司(京大医)「マウス精子幹細胞長期培養系の確立：Germline stem(GS)細胞のもたらす新たな可能性」
7. 蓬田健太郎(阪大微研)「生殖幹細胞の増殖制御とその分化」
8. 岡部 勝(阪大遺伝情報)「生殖細胞における性の決定」
9. 尾畑やよい(東京農大バイオサイエンス)「卵子発生支持能の獲得とゲノミックインプリンティング」
10. 小倉 淳郎(理研バイオリソースセンター)「何が体細胞クローンの効率を決めるのか」
11. 若山 照彦(理研発生再生センター)「核の初期化と発生能」
12. 塩田 邦郎(東大農)「発生・細胞・組織特異的なゲノム・ワイド DNA メチル化領域について」
13. 岡野 正樹(理研発生再生センター)「マウス個体発生における DNA メチル化酵素の役割」
14. 佐々木裕之(遺伝研)「配偶子形成とゲノムインプリンティング確立における *de novo* メチル化酵素の役割」
15. 石野 史敏(東京医科歯科大難治研)「生殖細胞系列におけるゲノムインプリンティング記憶のリプログラミング」

## 5. 協議員・教職員名簿

### ◆ 京都大学再生医科学研究所協議員 ◆

塩 田 浩 平（京都大学大学院医学研究科教授）  
荒 木 光 彦（京都大学大学院工学研究科教授）  
西 田 栄 介（京都大学大学院生命科学研究科教授）  
伊 藤 紳三郎（京都大学大学院工学研究科教授）  
鍋 島 陽 一（京都大学大学院医学研究科教授）  
中 畑 龍 俊（京都大学大学院医学研究科教授）

### ◆ 京都大学再生医科学研究所職員等（平成 17 年 1 月 1 日現在） ◆

所 長 中 辻 憲 夫

#### ■ 生体機能学研究部門 ■

##### 〈細胞機能調節学分野〉

教授：永田和宏 助教授：細川暢子 助手：久保田広志 講師(非常勤)：遠藤斗志也，森 正敬，和田郁夫  
技能職員：島田道子 教務補佐員：長束優子 事務補佐員：石田玉美 研究補助員：中川澄江，金森和美，門田真奈  
大学院生：森戸大介，松岡泰弘，中村純治，小田裕香子，久保田進，長澤孝治，北村 朗，石田義人，潮田 亮，奥井大介，  
平山尚志郎，藪上欣亮  
博士研究員：本間貴之，寶関 淳

##### 〈生体微細構造学分野〉

講師：平芳一法 大学院生：法邑賢一

##### 〈生体機能調節学分野〉

教授：坂口志文 助手：野村尚史，高橋武司(休職)，種田貴徳(特任) 講師(非常勤)：坂口教子，清水 淳  
教務補佐員：山本恵津子 事務補佐員：吉村雅代  
大学院生：西岡朋尚，瀬戸口留可，八木治彦，吉富啓之，田中 聡，小野昌弘，廣田圭司，中村恭子，長濱寛二，杉本直志，  
鬼頭昭彦  
研究員：Zoltan T. Fehervari，山口智之

##### 〈生体システム制御学分野〉

教授：長澤丘司 助手：常世田好司 COE 研究員：細野 晃  
技術補佐員：佐藤瑞穂  
大学院生：杉山立樹，三上 栄，星野託広，小原洋志，仁本健太，野田麻実子，梶原 茜

##### 〈生体再建学分野（国内客員）〉

教授：小椋利彦 助教授：小阪美津子

#### ■ 生体組織工学研究部門 ■

##### 〈生体分子設計学分野〉

教授：開 祐司 助教授：宿南知佐 助手：近藤俊哉 講師(非常勤)：近藤 淳，手塚建一，渥美忠男，今井賢治  
教務補佐員：滝本 晶 事務補佐員：久保友紀恵 技術補佐員：角花美和  
大学院生：三浦重徳，伊東良太，泉真一郎，北川 章(休学中) 研究員：西崎有利子

〈生体材料学分野〉

教授：田畑泰彦 助手：山本雅哉 COE 研究員：北郷明成

事務補佐員：高崎みゆき

大学院生：櫛引俊宏，井上幸子，木村 祐，城潤一郎，劉 健，高本智紹，柳瀬 薫，藤川智行，岡崎有道，谷川麻世，  
野一尚子，猪飼智範，小西光長，金谷 勲，今村正明，市戸義久，小川源太郎

受託研究員：山田正敏，金井夏子 日本学術振興会特別研究員：上田寛樹

〈組織修復材料学分野〉

教授：岩田博夫 助教授：加藤功一 講師(非常勤)：宇山良公，星野一正，清水幸雄

事務補佐員：鈴木義子

大学院生：山内文生，伊比井崇向，吉迫 智，森安健太，藤田 聡，藤本裕之，三浦 傑，安藤知子，北原七恵  
民間等共同研究員：戸田満秋 教務補佐員：有馬祐介，山添泰宗 産学官連携研究員：佐藤秀樹，三宅 雅

〈生体物性学分野 (国内客員)〉

教授：田中順三

■ 再生統御学研究部門 ■

〈発生分化研究分野〉

教授：中辻憲夫 助教授：齋藤哲一郎 特任助手：中馬新一郎 リサーチアソシエイト：長谷川光一，木村博信

研究員：喜多村晃一，川瀬栄八郎 日本学術振興会特別研究員：水谷健一 教務補佐員：佐波理恵，森部江美子，久世敦美

技術補佐員：田中ます子 事務補佐員：酒井睦美，廣富ひとみ

大学院生：庄司昌伸，藤本康子，細川美穂子，Cowan, Aaron Balfour

〈再生誘導研究分野〉

教授：山中伸弥 研究員：一阪朋子

〈再生増殖制御学分野〉

教授：瀬原淳子 助手：栗崎知浩 特任助手：若月修二

事務補佐員：倉澤祥子

大学院生：正木めぐみ，入江直樹，湯本法弘，小松紘司，東利圭，横関智一，大西絵理

CREST 研究員：増田亜紀

〈再生免疫学分野〉

助教授：喜納辰夫 助手：藤本真慈

研究生：折橋 郁

■ 再生医学応用研究部門 ■

〈生体修復応用分野〉

(欠員中)

〈組織再生応用分野〉

教授：戸口田淳也 助手：青山朋樹

事務補佐員：安田尚代

大学院生：西庄功一，石部達也，安良 興，柴田弘太郎，嶋靖子，梁鉞堅，吹上謙一，光野芳樹，大塚聖視，上島大輔

〈器官形成応用分野〉

助教授：角昭一郎 講師(非常勤)：砂村真琴，日裏彰人

事務補佐員：大谷純子

大学院生：佐竹 晃，奇梅日更，漆 智

研究生：星野順一 研修員：古賀まり 研究員：顧 元駿



〈臓器再建応用分野〉

助教授：中村達雄 講師(非常勤)：早川克己，稲田有史，井上祐利，根本 正  
事務補佐員：矢延聡枝 技術補佐員：苑田佳子  
大学院生：福田正順，金 修一，森野茂行，中田 顕，田尾裕之，中島 晋，中瀬有遠，市原理司  
研究生：糸井真一，河南里江子，岸上義弘，小林丈士  
研修員：呉本晃一，松野智宣，茂野啓示

〈再生医学応用流動分野〉

(欠員中)

■ 附属再生実験動物施設 ■

施設長(兼)：坂口志文  
助教授：近藤 玄 技術職員：出口央士  
技能補佐員：古卿智英，人見博子，岸本好子，山尾勝美，石丸英典，細田 勝，西山尚之，川本悦子，柴田 豊，山崎幸子  
渡辺知子，野宮真佑美，三上暢子，渡邊仁美

■ 附属幹細胞医学研究センター ■

センター長(兼)：中辻憲夫

〈霊長類胚性幹細胞研究領域〉

助教授：末盛博文 産学官連携研究員：安近健太郎，角 智行，藤岡 剛  
民間等共同研究員：山内香織 事務補佐員：采女久美子 大学院生：石井隆道，安田晋也，安達啓子，恒吉法尋

〈幹細胞分化制御研究領域〉

助教授：山下 潤 研究員(共同研究員)：平岡美奈 大学院生(派遣研究学生)：柳 堅徳  
研究生：島津親志 技術補佐員：中野亜紀子，井上恵美 大学院生：顔 培実 教務補佐員：沖本きよみ

〈幹細胞加工研究領域〉

助教授：多田 高 民間等共同研究員：多田政子  
大学院生：秦野慎矢，黒田貴雄，松村寛行，山口新平，鈴木達也

■ 附属ナノ再生医工学研究センター ■

センター長(兼)：堤 定美

〈ナノバイオプロセス研究領域〉

教授：楠見明弘

〈ナノバイオメカニズム研究領域〉

教授：池内 健 助手：都賀谷紀宏  
事務補佐員：新川知子

大学院生：大橋徹夫，鬼頭孝之，高嶋一登，Marco Hiroshi Naka，寺田大樹，川崎賢治

〈シミュレーション医工学研究領域〉

教授：堤 定美 助教授：玄 丞然 講師(非常勤)：南部敏之，茂木伸夫，菅原明喜  
教務補佐員：東 高志 事務補佐員：上村幸代，小柴里美 技術補佐員：橋本麻美  
外国人研究者：文 成日 大学院生：金 奉哲，李 英哲，鄭 徳泳，姜 有峯，中井隆介，衛藤大亮，蔡 毅，山本 宏  
研究生：土肥健二，井汲憲治，城真理子，丘 進卿，金 学嬉，曹 漢姫 特別研究派遣学生：韓 龍海  
研修員：中村昌幸，村上正裕 研究員：中島直喜，三島昭宏，松村和明，須賀井一

〈再生医工学研究領域(外国人客員)〉

(欠員中)

■ 寄附研究部門 ■

〈組織分化制御学研究部門〉

助教授(特任)：平井洋平      助手(特任)：青野真也

民間等共同研究員：池口直樹，岡由美子      事務補佐員：奥田由美子

■ 技術部 ■

技術専門員：松下降壽      技術専門職員：小岸久美子

■ 事務部 ■

事務長：伊東成治

総務掛長：吉村淳郎      主任：島本 博(休職)      技能職員：高沖悠子      事務補佐員：緒方康子，戸倉理恵子

研究協力掛長：小西喜久男      事務職員：田原美粧，横田夏子      事務補佐員：中瀬安子

会計掛長：勝部 力      事務職員：奥村和彦，植田忠紘      事務補佐員：戸嶋素子

---

---

*Annual Report of the Institute for Frontier Medical Sciences*  
*Kyoto University 2004*

京都大学再生医科学研究所年報 2004

2005 年 3 月 18 日 印刷 2005 年 3 月 25 日発行

発 行 京都大学再生医科学研究所

京都市左京区聖護院川原町53 〒606-8507

印 刷 (株)北斗プリント社

---

---